

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**KOAH'LI HASTALARDA MBL (MANNOZ BİNDİNG
LEKTİN) GEN POLİMORFİZMİ**

Dr. Çiğdem TURAN

Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR

2017

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

KOAH'LI HASTALARDA MBL (MANNOZ BİNDİNG
LEKTİN) GEN POLİMORFİZMİ

Dr. Çiğdem TURAN

Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŐMANI
Prof. Dr. Mehmet Sinan ERGİNEL

ESKİŞEHİR

2017

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.

ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI' NA

Dr. Çiğdem TURAN' a ait " KOAH' lı hastalarda MBL (Mannoz Binding Lektin) gen polimorfizmi " isimli çalışma jürimiz tarafından Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih: .. / .. /

Jüri Başkanı Prof. Dr. Mehmet Sinan ERGİNEL
Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı

Üye Prof. Dr. Mehmet KARADAĞ
Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi
Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı

Üye Prof. Dr. Hüseyin YILDIRIM
Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Ünivesitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun/...../.....
Tarih ve/..... Sayılı Kararıyla onaylanmıştır.

Prof.Dr. Alparslan BİRDANE
Rektör Yardımcısı
Dekan Vekili

TEŞEKKÜR

Öncelikle tez konusunu seçerken isteklerimi göz önünde bulundurup tezimin hazırlanmasında çok büyük emeği olan, mesleki bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren, öğrenmeyi ve öğretmeyi çok seven, dürüst, çalışkan, tanımaktan onur duyduğum saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Mehmet Sinan ERGİNEL'e ve Prof. Dr. Hüseyin YILDIRIM'a teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

Turan, Ç. KOAH'lı hastalarda MBL (Mannoz binding lektin) gen polimorfizmi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2017. Bu çalışmada KOAH'lı hastalarda mannoz bağlayıcı lektin (MBL) gen polimorfizmi ile KOAH arasındaki ilişkinin incelenmesi, serum MBL düzeylerinin saptanması ve KOAH alevlenme sıklığı ile serum MBL düzeyleri arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmaya 80 hasta ve 60 sağlıklı (30 sigara kullanıcısı, 30 sigara kullanıcısı olmayan) kontrol dahil edildi. Hasta bireyler GOLD tanımına uygun olarak KOAH tanısı alan ve son 6 hafta içinde akut eksaserbasyonda olmayan ve kanser, tüberküloz (enfeksiyöz nedenler) gibi ek akciğer patolojisi olmayan olgulardan seçildi. Sağlıklı bireyler ise herhangi bir bilinen akciğer ve diğer sistem patolojisi olmayan gruptan seçildi. KOAH ile MBL polimorfizmi arasındaki ilişki *Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP) yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Serum MBL düzeyi ise *Human Mannose-Binding Lectin Gene Elisa* kiti kullanılarak belirlenmiştir. Çalışmamızın sonucuna göre MBL2 kodon 54B polimorfizmi genotip dağılımları açısından KOAH hastaları ile sağlıklı bireyler arasında anlamlı fark bulundu ($p=0.026$). KOAH ve kontrol grubu ortalama serum MBL düzeyleri (ng/ml) arasında anlamlı fark bulundu ($p=0.021$). Ancak KOAH alevlenme sıklığı ile serum MBL düzeyleri arasında bir ilişki saptanmadı. Sonuç olarak KOAH'lı hastalarla MBL polimorfizmi arasında ilişki saptandı ve ortalama serum MBL düzeyleri KOAH grubunda sağlıklı bireylere göre anlamlı olarak daha düşük ortaya kondu.

Anahtar Kelimeler: MBL, Polimorfizm, KOAH

Destekleyen kurumlar: ESOGÜ BAP (201511014)

ABSTRACT

Turan, Ç. MBL (Mannose binding lectin) gene polymorphism in COPD patients. Eskisehir Osmangazi University, Faculty of Medicine Medical Specialty Thesis in Department of Pulmonology Medicine, Eskisehir 2017. In this study, we aimed to investigate the relationship between mannose-binding lectin (MBL) gene polymorphism and COPD in patients with COPD, to determine serum MBL levels and to investigate the relationship between serum MBL levels and COPD exacerbation frequency. 80 patients and 60 healthy controls (30 smokers and 30 non-smokers) were included in the study. The patients were selected from the cases diagnosed with COPD according to the GOLD definition and who did not have acute exacerbations in the last 6 weeks and additional pulmonary pathologies such as cancer, tuberculosis (infectious causes). Healthy individuals were selected from the group without any known lung or other system pathology. The relationship between COPD and MBL polymorphism was investigated using the *Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP)* method. Serum MBL level was determined using Human Mannose-Binding Lectin Gene Elisa kit. According to the results of our study, there was a significant difference between COPD patients and healthy subjects in terms of MBL2 codon 54B polymorphism genotype distributions ($p = 0.026$). There was a significant difference in mean serum MBL levels (ng / ml) between COPD and control group ($p = 0.021$). However, there was no correlation between the frequency of exacerbation of COPD and serum MBL levels. As a result, there was a relationship between patients with COPD and MBL polymorphism and mean serum MBL levels were significantly lower in the COPD group than in healthy subjects.

Key Words: MBL, Polymorphism, KOAH

Supported by: ESOGU BAP (201511014)

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı	3
2.1.1. Tanım	3
2.1.2. KOAH' ın Yüğü	3
2.1.3. Risk Faktörleri	4
2.1.4. KOAH Patogenezi ve Patofizyolojisi	7
2.1.5. KOAH' ta Tanı	12
2.1.6. KOAH' ta Değerlendirme	13
2.1.7. KOAH Alevlenmesi	18
2.2. Mannoz Bağlayıcı Lektin (MBL) ve MBL Gen Polimorfizmi	21
2.2.1. Mannoz Bağlayıcı Lektin' in Yapısı	21
2.2.2. MBL' nin Fonksiyonları	21
2.2.3. MBL' nin Moleküler Genetiği	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25

	Sayfa
3.1. Gereç	25
3.1.1. Araştırma Grubu	25
3.1.2. Kullanılan Cihaz ve Gereçler	26
3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Malzemeler	27
3.2. Yöntem	28
3.2.1. DNA İzolasyonu	28
3.2.2. İzole Edilen DNA Örneklerinin PCR ile Amplifikasyonu	30
3.2.3. Agaroz Jel Elektroforezi	32
3.2.4. Jelin CCD Kamera ile Değerlendirilmesi	33
3.2.5. Serum MBL Düzeyinin Belirlenmesi	35
3.3. İstatiksel Analiz	36
4. BULGULAR	37
5. TARTIŞMA	47
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	52
KAYNAKLAR	54

SİMGELER VE KISALTMALAR

A1AT	Alfa-1 Antitripsin
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ATS	American Thoracic Society
BAL	Bronkoalveolar Lavaj
bç	Baz çifti
BOLD	Burden of Obstructive Lung Disease
°C	Santigrat Derece
CAT	KOAH Değerlendirme Anketi
CCD	Charge Coupled Device
CCQ	COPD Control Questionnaire
CRP	C- Reaktif Protein
CRQ	Chronic Respiratory Questionnaire
DALY	Disability Adjusted Life Years
ddH ₂ O	Deiyonize Su
dk	Dakika
DM	Diabetes Mellitus
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
dNTP	Deoksi Nükleotit Tri Fosfat
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
ERS	European Respiratory Society
FEV ₁	Birinci saniye zorlu ekspirasyon volümü

FVC	Zorlu Vital Kapasite
g	Gram
G-CSF	Granülosit Koloni Uyarıcı Faktör
GOLD	Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease
GST	Glutasyon-S-Transferaz
HEMOX	Heme oksijenaz
HDAC	Histon Deasetilaz
HT	Hipertansiyon
KAH	Koroner Arter Hastalığı
kDa	Kilodalton
KOAH	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
IL-1	İnterlökin 1
IL-6	İnterlökin 6
IL-8	İnterlökin 8
LTB4	Lökotrien B4
MASP	Mannose Associated Serine Protease
MBL	Mannoz Bağlayıcı Lektin
MBP	Mannoz binding protein
MMPs	Matriks Metalloproteinler
mMRC	Modified Medical Research Council
ml	Mililitre
ng	Nanogram
nm	Nanometre
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism

RNAaz	Ribonükleaz
RPM	Revolutions Per Minute
SGRQ	Saint George's Respiratory Questionnaire
SOD	Süperoksit Dismutaz
sn	Saniye
TBE	Tris-borate-EDTA
TNF- α	Tümör Nekroz Faktör-alfa
TNFR-55	Tümör Nekroz Faktör-alfa Reseptörtörü 55
TNFR-75	Tümör Nekroz Faktör-alfa Reseptörtörü 75
TGF- β 1	Transforming Growth Faktör-beta1
USA	United States
UV	Ultraviyole
V/Q	Ventilasyon/ Perfüzyon
YLD	Years of healty life lost due to disability
μ l	Mikrolitre
μ M	Mikrometre

ŞEKİLLER

	Sayfa
2.1. KOAH' ta hava akım kısıtlanmasının mekanizmaları	10
2.2. KOAH Patogenezi	10
2.3. KOAH Patofizyolojisi	12
2.4. KOAH Değerlendirme anketi	15
2.5. Mannoz bağlayıcı lektin(MBL)'in yapısı	21
2.6. MBL - kompleman aktivasyon- lektin yolu	22
2.7. MBL geninin yapısı	23
3.1. MBL2 54B gen bölgesinde optimum PCR ürünü elde etmek için yapılan PCR çalışmaları	33
3.2. Ban I enzimi ile kesilen MBL2 54B gen bölgesi	35
4.1. MBL2-54B polimorfizmi genotip grafiği	40
4.2. KOAH ve kontrol grubunun serum MBL düzeylerinin dağılımı	42
4.3. KOAH hastalarında serum MBL düzeyleri ile MBL2 genotipleri arasındaki ilişki	45
4.4. Kontrol grubunda serum MBL düzeyleri ile MBL2 genotipleri arasındaki ilişki	45
4.5. Atak sayısı ile genotip dağılımları arasındaki ilişki	46

TABLULAR

	Sayfa
2.1. İnflamatuvar hücreler ve etkileri	8
2.2. Modifiye MRC Skalası	14
2.3. Bronkodilatör sonrası FEV ₁ 'e göre hava akımı kısıtlanmasının derecelendirilmesi	16
2.4. KOAH' ta Birleşik Değerlendirme	17
2.5. KOAH alevlenmelerinin gruplandırılması	19
3.1. PCR reaksiyonları, primer dizileri ve annealing ısıları	31
3.2. PCR protokolü	32
3.3. Ban I kesimi için hazırlanan kesim şartları ve miktarları	34
4.1. Çalışmaya katılan KOAH ve sağlıklı kontrollerin demografik özellikleri	38
4.2. KOAH hastaları ve kontrollerde MBL2 54B polimorfizmi genotipleri	39
4.3. KOAH hastalarının genotip dağılımlarına göre demografik özellikleri	41
4.4. KOAH ve kontrol grubunun serum MBL düzeyleri	42
4.5. KOAH ve kontrol grubunda genotip dağılımlarına göre serum MBL düzeyleri	43
4.6. KOAH hastalarının atak sıklığına göre demografik özellikleri	44

1. GİRİŞ

Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH); zararlı gaz ve partiküllere karşı havayolları ve akciğerin artmış kronik inflamatuvar yanıtı ile ilişkili ve genellikle ilerleyici özellikteki kalıcı hava akımı kısıtlaması ile karakterize, yaygın, önlenebilir ve tedavi edilebilir bir hastalıktır (1).

KOAH dünya çapında en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biridir ve önemli boyutlarda ve giderek artan bir ekonomik ve sosyal yüke neden olmaktadır (1). Küresel Hastalık Yüğü Çalışması'nda 1990 yılında altıncı ölüm nedeni olan KOAH'ın, 2020 yılında dünya çapında başı çeken üçüncü ölüm nedeni olacağı tahmin edilmektedir; daha yeni bir tahminde 2030 yılında KOAH'ın dördüncü ölüm nedeni olacağı hesaplanmıştır (2). KOAH'la ilişkili ölümlerdeki artışta sigara içme salgınındaki artış ve özellikle gelişmekte olan ülkelerde toplumun yaş yapısındaki değişimin büyük bir katkısı bulunmaktadır (3).

Sigara içme alışkanlığı ve iç ortam hava kirliliği gibi risk faktörlerinin oldukça yaygın olduğu Türkiye'de, KOAH'ın yüküne yönelik yeterli çalışma bulunmamaktadır (4). Son on yılda yapılan iki çalışma, ülkemizde KOAH'ın yüküne yönelik önemli verilerin elde edildiği Ulusal Hastalık Yüğü Çalışması ve Adana ilinde yapılan BOLD-Türkiye Çalışmasıdır. Sağlık bakanlığınca Küresel Hastalık Yüğü (Global Burden of Study) yöntemi kullanarak Türkiye'de ölüm nedenlerini tahmin etmeyi hedefleyen çalışmada, en sık görülen ölüm nedenleri arasında KOAH'ın üçüncü sırada olduğunu bildirilmiştir (5, 6).

Kronik obstrüktif akciğer hastalığında risk faktörlerinin belirlenmesi; hem hastalığın farklı toplumlardaki prevalansının geleceğe dönük olarak azaltılmasında, hem de var olan hastalığın ilerlemesinin yavaşlatılmasında önemlidir (3). Sigara, KOAH gelişiminde önemli bir risk faktörü olmasına rağmen sigara içenlerin sadece bir kısmında KOAH gelişmektedir (7-9). Diğer taraftan inhalasyon yolu ile alınan ve hava yollarına zarar verme olasılığı yüksek olan gaz, toz ve partiküllere ne oranda maruz kalırsa kalınsın risk altındaki her bireyde KOAH gelişmediği de bir gerçektir (3). Bu durum KOAH gelişiminde genetik faktörlerin de katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir.

KOAH gelişimine yol açtığı en iyi bilinen risk faktörü alfa-1 antitripsin eksikliğidir (10). Alfa-1 antitripsin dışında; matriks metalloproteinler (MMPs), tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α), antioksidan enzimler (GST, SOD, HEMOX, mHPEX) üzerinde etkili genler, transforming growth faktör beta-1 ve interlökin salınımını düzenleyici genler ile histon deasetilaz (HDAC) aktivitesini baskılayan gen bozuklukları ve özellikle 2, 12, 22 numaralı kromozom anomalilerinin KOAH gelişiminde etkili olabileceği düşünülmektedir (11-13).

Son yıllarda KOAH ve mannoz bağlayıcı lektin (MBL) gen polimorfizmleri ile ilgili yapılan çalışmalarda KOAH ve MBL eksikliği arasında ilişki bulunmuştur. KOAH'lı hastalarda serum MBL düzeyleri düşük bulunmuş ve ayrıca bu hastalarda enfektif alevlenme riski artmış olarak not edilmiştir. Ancak yapılan bu çalışmalar arasında tam bir uyum söz konusu değildir ve bu konuda yeterli düzeyde bir çalışma yoktur.

Çalışmamızda KOAH'lı hastalar ile MBL gen polimorfizmi arasındaki ilişkinin araştırılması, KOAH'lı hastalarda serum MBL düzeylerinin saptanması ve KOAH alevlenme sıklığı ile serum MBL düzeyleri arasındaki ilişkinin incelenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı

2.1.1. Tanım

Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAİ); zararlı gaz ve partiküllere karşı havayolları ve akciğerin artmış kronik inflamatuvar yanıtı ile ilişkili ve genellikle ilerleyici özellikteki kalıcı hava akımı kısıtlaması ile karakterize, yaygın, önlenemez ve tedavi edilebilir bir hastalıktır. Alevlenmeler ve komorbiditeler hastalığın şiddetine katkıda bulunur (1).

2.1.2. KOAİ' in Yüğü

Epidemiyoloji: Son 200 yıldır nüfusun giderek yaşlanması ve geleneksel risk faktörlerinin (yetersiz beslenme, kirlı su, hijyenik olmayan koşullar, ev içi kirlilik vb.) giderek azalması fakat yeni risk faktörlerinin (tütün, fiziksel inaktivite, obezite, mesleki riskler, hava kirliliğı vb.) ortaya çıkması hastalık kalıplarının da değışmesine neden olmuştur (14). Günümüzde enfeksiyon hastalıkları giderek azılırken, kronik hastalıklar en büyük mortalite ve morbidite nedeni haline gelmiştir (15). Tüm dünyada ölümlerin %66'sı kronik hastalıklar nedeniyle gerçekleşmektedir. Kalp-damar hastalıkları, kanserler, kronik solunum hastalıkları ve diyabet tüm kronik hastalıkların %80'ini oluşturmaktadır. 2010 yılında kronik solunum hastalıkları yüzünden gerçekleşen 3.8 milyon ölümün 2.9 milyonunun nedeni KOAİ'tir (16).

KOAİ, tüm dünyada önde gelen mortalite ve morbidite nedenidir. Neden olduğu büyük ekonomik ve sosyal yük giderek artmaktadır. Hastalığın mortalite, morbidite ve prevalansı ülkeler arasında ve aynı ülke içindeki değışik gruplarda büyük farklılıklar göstermektedir. KOAİ'in prevalansı ve hastalık yükünün, risk faktörleriyle (tütün dumanı, iç ortam hava kirliliğı ve mesleki maruziyet) sürekli karşılaşma ve dünya nüfusunun giderek yaşlanmasına paralel olarak önümüzdeki yıllarda artmaya devam edeceği öngörülmektedir. Son çalışmalardaki tek olumlu veri, gelişmiş ülkelerde özellikle erkeklerde 65-84 yaş grubunda KOAİ ile ilişkili mortalitenin azalma eğiliminde olduğudur (17).

Mortalite: Küresel Hastalık Yükü Çalışması verilerine göre 1990'da altıncı ölüm nedeni olan KOAH'ın 2020 yılında dünya çapında başı çeken üçüncü ölüm nedeni, daha yeni bir tahminde 2030 yılında dördüncü ölüm nedeni olacağı tahmin edilmektedir (2).

Morbidite: Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından hastalık yükünü değerlendirmede “Years of healthy life lost due to disability” “(YLD)” ve “Disability Adjusted Life Years” “(DALY)” ölçütleri kullanılmaktadır. Gerek sakatlık nedeniyle kaybedilen yıllar olarak tanımlanan YLD, gerekse erken ölümler ve sakatlık nedeniyle kaybedilen yılların toplamı olarak tanımlanan DALY açısından KOAH önemli bir morbidite nedenidir. Küresel Hastalık Yükü çalışmasına göre 2010 yılında küresel hastalık yüküne (DALY ve YLD) en çok katkıda bulunan hastalıklar sıralamasında KOAH, 9. sırada yer almaktadır (18, 19).

Prevalans: KOAH prevalansı ile ilgili tahminler, araştırma bölgesi, örneklem sayısı ve yöntemi, anket yanıtlama oranı, spirometrik testlerin kalite kontrolü ve bu testlerin bronkodilatatör öncesi veya sonrası yapılması ve hava akımı kısıtlamasında kullanılan ölçütlere göre farklılık gösterir (20). On iki ülkede yapılan BOLD çalışmasında 40 yaş üstü nüfusta KOAH prevalansının sabit oran ölçütü (post-bronkodilatatör FEV₁/FVC <%70) kullanıldığında %25 , GOLD evrelemesi kullanıldığında ise bu oranın %10.1 olduğu gösterilmiştir (21). Güney Amerika'nın beş kentinde yapılan PLATİNO çalışmasında ise KOAH prevalansının yaşla birlikte arttığı ve en yüksek prevalans değerine 60 yaşın üzerindeki kişilerde rastlandığı görülmüştür (22). Türkiye' de Adana ilinde 2004 Ocak ayı içinde yapılan BOLD-Adana KOAH prevalans çalışmasında, bu ildeki 40 yaş üstü yetişkinlerde sabit oran ölçütü kullanıldığında KOAH prevalansının %19,1 olduğu (erkeklerde %28.5, kadınlarda %10.3) saptanmıştır (23). Ayrıca Sağlık Bakanlığınca 2011 yılında yapılan Türkiye Kronik Hastalıklar ve Risk Faktörleri Sıklığı Çalışmasında, 15 üstü yaş grubunda , spirometriye dayalı KOAH prevalansı %5,3, doktor tanımlı KOAH prevalansı ise %4 olarak bulunmuştur (24).

2.1.3.Risk Faktörleri

KOAH, genetik duyarlılıkla, çevresel uyaranlara maruziyet arasında karşılıklı etkileşim sonucu ortaya çıkan bir hastalıktır (25). KOAH gelişiminde en önemli risk

faktörü sigara olmakla birlikte diğer kesinleşmiş risk faktörleri alfa-1 antitripsin (A1AT) eksikliği ve mesleki tozlarla karşılaşmadır. Kronik obstrüktif akciğer hastalığında risk faktörlerinin belirlenmesi, hastalığın ilerlemesinin yavaşlatılması ve hastalık prevalansının azaltılmasında önemlidir (20). KOAH gelişimde rol oynadığı düşünülen risk faktörleri aşağıda ayrıntılı bir şekilde anlatılmıştır:

Genetik Faktörler: KOAH gelişimine yol açtığı en iyi bilinen genetik risk faktörü ağır kalıtsal A1AT eksikliğidir (10). A1AT eksikliği dışında tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α), vitamin D bağlayan protein, matriksmetalloproteinazlar (MMPs), antioksidan enzimler (SOD, GST, HEMOX, mHPEX), transforming growth faktör beta-1 (TGF- β 1), interlökin salınımını düzenleyici genler, mukosilyer klirensi düzenleyici genler ve histondeasetilaz (HDAC) aktivitesini baskılayan gen bozukluklarının da KOAH gelişiminde etkili olduğu düşünülmektedir (20). Farklı çalışma populasyonlarında birbirleriyle tutarsız sonuçlar elde edilmiştir. Bu nedenle KOAH'ın genetik temeli hala tam olarak anlaşılamamıştır. Muhtemelen farklı gen kombinasyonları çevresel faktörlere karşı duyarlılığı artırmaktadır.

Yaş ve cinsiyet: Yaşam süresinin uzaması kişinin daha fazla risk faktörüne maruz kalmasına neden olacağından yaş, KOAH gelişiminde çoğu zaman risk faktörü olarak sayılmaktadır. Ancak risk faktörlerinden bağımsız olarak sağlıklı bir yaşlanmanın KOAH'a neden olup olmadığı net değildir (26).

Eskiden yapılan çalışmalarda erkek cinsiyette KOAH prevalansı ve mortalitesi daha yüksek olmasına rağmen günümüzde gelişmiş ülkelerde bu durum kadın ve erkek cinsiyette eşitlenmiştir. Bu durumun gelişmiş ülkelerde kadınların sigara içme oranlarında artma, gelişmekte olan ülkelerde ise kadınların daha fazla biomass maruziyeti nedeniyle olduğu düşünülmektedir (26).

Akciğer büyüme ve gelişmesi: Akciğer gelişimi gebelik döneminde başlayıp doğum ve çocukluk dönemi ile devam eder. Anne karnından itibaren akciğerlerin büyümesini etkileyen olaylar (gebelikte annenin sigara içimi, pasif sigara maruziyeti, düşük doğum ağırlığı, çocuklukta geçirilen akciğer enfeksiyonları, hava yolu aşırı duyarlılığı) akciğer gelişimini olumsuz yönde etkilemektedir. Doğum ağırlığı ile erişkin yaştaki FEV₁ değerleri arasında pozitif ilişki gösterilmiştir (27).

Partiküllere maruz kalma: Sigara, KOAH gelişiminde en önemli risk faktörüdür. KOAH tanısı konan hastaların yaklaşık %80'inden sigara sorumludur (28). Sigara içenlerde içmeyenlere göre FEV₁'de azalma hızı ve KOAH'da mortalite hızı daha yüksektir. KOAH gelişiminde kişinin sigaraya başlama yaşı, sigara içme süresi, günlük içilen sigara sayısı ve cinsiyet önemlidir (8). Diğer tip tütün kullanımı (pipo, puro, nargile vb.) ve çevresel tütün dumanı da akciğerlerin toplam inhale partikül ve gaz yükünü artırarak solunumsal semptomlar ve KOAH gelişimine katkıda bulunabilir.

Amerika Birleşik Devletleri Halk Sağlığı Kurumu 2004 raporuna göre, KOAH gelişiminden %90 oranında sigara içimi sorumludur. Fakat son çalışmalar, sigara içiminin sorumluluğu ile ilgili bu tahmini %44-45'e düşürmüştür (29, 30).

KOAH gelişiminde işyerlerinde organik ve inorganik tozlara, kimyasal ajanlara ve dumanlara maruziyet de önemli bir risk faktörüdür. Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir çalışmada KOAH gelişiminde mesleki maruziyetin katkısının %19.2 olduğu, bu değer sigara içmeyenlerde %31.1 olduğu bildirilmiştir (28).

Yeterli havalanamayan evlerde, iyi çalışmayan sobalar veya açık ateşte yakılan odun, tezek, bitki kökleri ve kömürden kaynaklanan çok yüksek düzeylerde iç ortam hava kirliliği gelişebilmektedir. Tüm dünyada yaklaşık 3 milyar kişi ısınmak ve/veya yemek pişirmek amacıyla biyomas veya kömür kullanmaktadır (31). Mevcut kanıtlar, biyomas yakıt veya kömürden kaynaklanan iç ortam hava kirliliğinin KOAH gelişimi için önemli bir risk faktörü olduğunu göstermektedir (32).

Dış ortamdaki hava kirliliğinin KOAH gelişimindeki rolü net değildir, ancak sigara içiciliği ile karşılaştırıldığında bu riskin düşük olduğu düşünülmektedir (33).

Sosyoekonomik durum: Sosyoekonomik durumun KOAH gelişimi üzerine olan etkisi kesin olarak bilinmemekle birlikte, düşük sosyoekonomik durumda sık görülen sigara kullanımı, kalabalık ev ortamı, iç ortam hava kirliliği, intrauterin dönemden itibaren olan beslenme yetersizliği, sık enfeksiyon geçirme gibi faktörlerin KOAH için risk oluşturduğu bilinmektedir. Tüm bu faktörlerin, çalışmalarda ortadan kaldırılması çok güçtür. Diğer risk faktörleri düzeltildikten sonra

değerlendirildiğinde düşük sosyoekonomik durum KOAH gelişimi için bağımsız bir risk faktörü olarak bulunmuştur (34).

Beslenme: Beslenmenin KOAH gelişimindeki rolü konusunda yapılan çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Antioksidan vitaminlerin, doymamış yağ asitlerinin ve magnezyumun KOAH'a karşı koruyucu olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Çalışmalarda antioksidan olan C vitaminin yetersiz alınması ile FEV₁ düşüklüğünün ilişkili olduğu, ayrıca magnezyumun oral alımının artırılmasının solunum fonksiyonları üzerinde olumlu etkisinin olduğu gösterilmiştir (35).

Hava yolu aşırı duyarlılığı ve Astım: Astım KOAH gelişimi için bir risk faktörü olabilir ancak bu konuda yeterli kanıt yoktur. Yapılan bir çalışmada astım tanılı bireylerde sigara içme açısından düzeltme yapıldığında astım tanısı olmayan bireylere göre 12 kat daha fazla KOAH gelişme riski olduğu bildirilmiştir (36).

Hava yolu aşırı duyarlılığı ise KOAH gelişiminde sigaradan sonra ikinci sırada yer alan bağımsız bir risk faktörüdür. Genel nüfusta atfedilen risk, sigara için %39 iken bronş aşırı duyarlılığı için %15 olarak bildirilmiştir (35).

Kronik Bronşit: Fletcher ve arkadaşlarının çalışmasında kronik bronşit varlığının akciğer fonksiyonlarındaki azalma ile ilişkili olmadığı bildirilmesine rağmen, daha sonra yapılan çalışmalarda mukus hipersekresyonu ile FEV₁'deki azalma arasında bir ilişki bulunduğu ve kronik bronşit varlığının KOAH gelişimi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (37, 38).

Enfeksiyonlar: Çocukluk döneminde geçirilen sık ve ağır solunum yolu enfeksiyonlarının erişkin dönemde akciğer fonksiyonlarında azalma ve solunumsal semptomlarda artış ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (35, 39). Enfeksiyonlar KOAH alevlenmesinde rol oynamakla birlikte hastalık gelişimindeki etkisi net değildir (40).

2.1.4. KOAH Patogenezi ve Patofizyolojisi

Patogenez

KOAH'ın akciğer ve akciğer dışı etkilerinde sistemik inflamasyon yükünün önemli rol oynadığı ve bu etkilerle ilişkili olduğu bilinmektedir (41). İnflamatuvar yanıtta makofajlar, nötrofiller, T lenfositler (CD8), eozinofiller, epitel hücreleri ve

inflatuar medyatörler rol oynamaktadır. İnflatuar hücreler ve etkileri Tablo-1'de özetlenmiştir.

Tablo 2.1. İnflatuar hücreler ve etkileri(42).

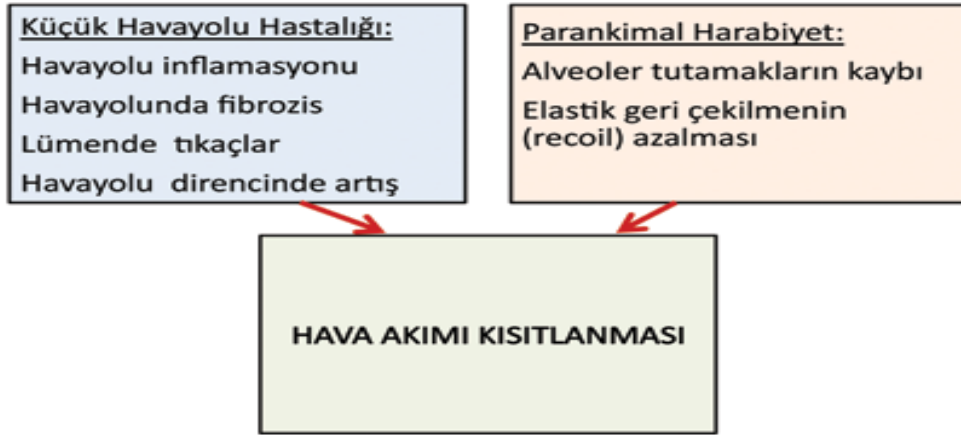
<ul style="list-style-type: none"> • Nötrofiller 	<ul style="list-style-type: none"> • Hava yollarında (BAL'da, balgamda daha belirgin) ve akciğer parenkiminde sayıları artmıştır • Aktive nötrofillerden salınan elastaz, oksijen radikalleri doku hasarına neden olur • Nötrofiller mukus hipersekresyonunu uyarır • Sigara dumanı, kaspaz-3'ün süpresyonu ile nötrofillerinfagositik aktivitesini engeller • Nötrofil sayısı hava yolu obstrüksiyonunun derecesi ile ilişkilidir
<ul style="list-style-type: none"> • Makrofajlar 	<ul style="list-style-type: none"> • Hava yollarında (BAL'da, balgamda), akciğer parenkiminde sayıları artmıştır • Sigara dumanı makrofajları aktive eder • TNF-α, LTB4 ve IL-8 başta olmak üzere bazı kemokinler salınır • Matriks Metalloproteinazların (MMP-1 ve -9) da salınımına neden olurlar • Makrofaj sayısı KOAH ciddiyeti ile artış gösterir
<ul style="list-style-type: none"> • T lenfositler 	<ul style="list-style-type: none"> • Akciğer parenkiminde ve hava yollarında sayıları artmıştır • Büyük ölçüde CD8 T lenfosit artışı görülür • T hücre sayısı ile alveolar yıkım ve hava yolu kısıtlılığı ciddiyeti ilişkilidir • CD8 T lenfositler perforinler ve TNF-α'yı oluşturarak patofizyolojiye katkıda bulunur • CD4 T lenfositler CXCL10 kemokinini eksprese eder böylece MMP salınımını kontrol edilir.
<ul style="list-style-type: none"> • B lenfositler 	<ul style="list-style-type: none"> • Bronş duvarındaki lenfoid foliküllerde sayıları artmıştır • İnfeksiyona karşı oluşan adaptif bir immün yanıt olabileceği gibi KOAH patogenezinde henüz netleştirilememiş bir otoimmün süreçle ilişkili olabilir

Tablo 2.1."Devam" İnflamatuvar hücreler ve etkileri(42).

<ul style="list-style-type: none"> • Eozinofiller 	<ul style="list-style-type: none"> • Hava yollarında (BAL'da, balgamda) sayıları özellikle akut atakta artmış bulunabilir • Balgamda eozinofil artışı olmasa da eozinofilik katyonik protein ve eozinofilik peroksidaz saptanır, bu durum eozinofillerin degranülasyonuna bağlanmaktadır • Eozinofillerin KOAH patogenezindeki rolü netleştirilememiştir, hava yollarında eozinofili saptanan KOAH'ın kortikosteroidlere iyi yanıt veren bir fenotip olabileceği düşünülmektedir
<ul style="list-style-type: none"> • Epitel hücreleri 	<ul style="list-style-type: none"> • Sigara dumanı ile IL-1, IL-8, TNFα ve G-CSF üretmek üzere aktive edilir • Hava yolu epitel hücreleri TGFβ'nın önemli bir kaynağıdır

Akciğerlerde küçük hava yolları ile ilişkili alveollerin kaybı ve akciğerin elastik geri çekilmesinde (recoil) azalma; hava yollarının ekspiryum boyunca açık kalabilme yeteneğinde azalmaya yol açmakta ve kronik hava akımı kısıtlanmasını oluşturmaktadır. Akciğer dokusunun hasarı olarak mukus hipersekresyonu, hava yolu daralması ve fibrozis oluşmaktadır. Sonuçta tüm bu faktörler hava yolu daralmasına ve akım kısıtlanmasının oluşumuna neden olmaktadır (Şekil 2.1).

KOAH'ta Hava Akımı Kısıtlanmasının Mekanizmaları



Şekil 2.1. KOAH'ta hava akım kısıtlanmasının mekanizmaları (20).

KOAH patogenezinde TNF- α , TNF- α reseptörleri (TNFR-55 ve TNFR-75), TGF- β , LTB₄, IL-6, IL-8, endotelin-1, C-reaktif protein (CRP), lipopolisakkarid bağlayan protein, Fas ve Fas ligand başlıca rol oynayan mediyatörlerdir. Bu mediyatörler KOAH'lı hastaların stabil ve atak dönemlerinde farklılık göstermektedir.

KOAH patogenezinde inflamasyonun yanı sıra akciğerlerde proteaz-antiproteaz dengesinin bozulması da önemli rol oynamaktadır (Şekil2.2)(43).



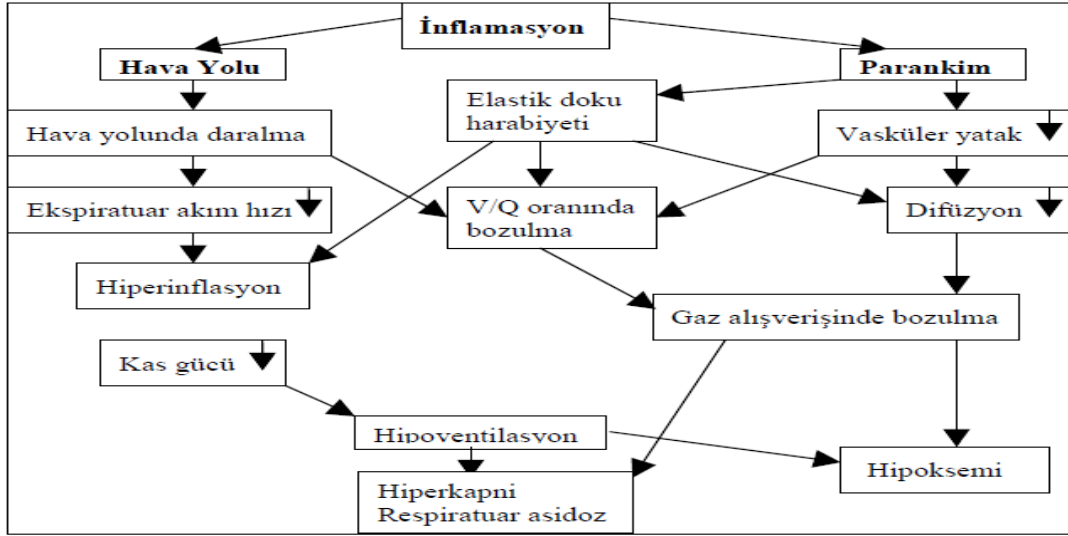
Şekil 2.2. KOAH patogenezi (44).

Sigara ve zararlı partiküllerin oluşturduğu oksidanlar, inflamatuvar genlerin ekspresyonunda artışa, antiproteaz etkinliğinde azalmaya ve mukus sekresyonunda artışa neden olur. Ayrıca ortamda artan proteazlar ile akciğer parankiminde yıkım süreci hızlanmaktadır.

KOAH patogeneğinde oksidatif stresin önemli bir yeri vardır. KOAH'lı hastalarda sistemik dolaşımında, ekspiryum havasında ve balgamda oksidatif stres belirteçlerinin arttığı gösterilmiştir (45-47). KOAH'ta en önemli oksidatif stres nedeni sigaradır. Nötrofiller ve makrofajlar da önemli oksidan kaynaklarıdır. Oksidatif stresin neden olduğu yapısal ve işlevsel değişikliklere karşı, glutatyon, süperoksid dismutaz, katalaz, ürik asit, bilirubin, flavonoidler, A ve C vitaminleri antioksidan aktiviteyi oluşturmaktadır. KOAH'ta glutatyon düzeyi artmış olmakla birlikte oksidatif stresteki artışın karşısında yeterli olamamaktadır (8).

Patofizyoloji

KOAH'ta temel patofizyolojik değişiklikler büyük ve küçük hava yollarının akım hızlarının kısıtlanması ve hava hapsi, parenkimal değişiklikler, gaz değişim anormallikleri, aşırı mukus salgılanması, damarsal değişiklikler, pulmoner hipertansiyon, atak dönemleri ve sistemik etkilerdir. Bunlar Şekil 2.3'te şemasal olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.3. KOAH Patofizyolojisi (48).

2.1.5. KOAH' ta Tanı

Nefes darlığı, kronik öksürük ya da balgam çıkarma ve/veya KOAH risk faktörlerine maruz kalma öyküsü bulunan her hastada KOAH düşünülmelidir. Tanı için spirometre zorunludur: bronkodilatatör sonrası FEV₁/FVC'nin <0.70 olması tanıyı doğrular (40).

Semptomlar: KOAH'a özgü semptomlar kronik ve ilerleyici nefes darlığı, öksürük ve balgam çıkarmadır. Birbirini izleyen iki yıl boyunca ve 3 ay ya da daha fazla süreyle balgam çıkarma ve öksürük "Kronik Bronşit" olarak tanımlanır. Hışıltılı solunum ve göğüste sıkışma hissi gün içinde veya günden güne değişebilen semptomlardır. KOAH'ın ileri dönemlerinde görülebilen ve prognostik önemi olan semptomlar yorgunluk, iştahsızlık ve kilo kaybıdır. Bacaklarda şişlik olması sağ kalp yetersizliği (kor pulmonale) geliştiğini gösteren ilk bulgu olabilir. Ayrıca anksiyete ve depresyon KOAH'lı hastalarda sık görülen semptomlardır.

Öykü: Öyküde semptomlar, süresi ve ne zaman geliştiği, ek hastalıklar (kalp hastalıkları, osteoporoz, uyku bozuklukları, kanserler vb.), sigara kullanıp kullanmadığı, meslek, alevlenmeler veya daha önce hastaneye yatış öyküsü olup olmadığı, anksiyete, depresyon gibi belirtilerin olup olmadığı, sosyoekonomik düzeyi ve aile öyküsü olup olmadığı sorgulanmalıdır.

Fizik Muayene: Hastaların değerlendirilmesinde önemli bir basamak olmasına karşın KOAH'ta solunum fonksiyonlarında belirgin bozukluk oluncaya kadar hava akımının kısıntlanmasına ait fizik muayene bulguları ortaya çıkmaz (49, 50). Bu nedenle tanı değeri düşüktür. Oskültasyonda ekspiryumda uzama ilk muayene bulgusudur. Daha sonra KOAH'ın ağırlığına göre fizik muayene bulguları belirginleşir. Göğüs ön-arka çapında artma, yardımcı solunum kaslarının kullanılması, büyük dudak solunumu, alt kostalarda paradoksik hareket, pretibial ödem, boyun venöz dolgunluğu, hepatomegali, kaşeksi ve siyanoz görülebilir. Solunum seslerinde azalma, sessiz akciğer, ronküsler ve raller duyulabilir.

Spirometri: Spirometri ile zorlu vital kapasite (FVC) ve 1.saniyede atılan hava hacmi (FEV₁) ölçülmeli ve FEV₁/FVC hesaplanmalıdır. Spirometrik ölçümler yaş, boy, cins ve ırka göre belirlenen referans değerlerle karşılaştırılarak değerlendirilir (37, 51, 52). Bronkodilatatör sonrası FEV₁/FVC'nin <0.70 olması tam geri dönüşlü olmayan hava akım kısıntlanması olduğunu gösterir.

2.1.6. KOAH'ta Değerlendirme

KOAH'ta değerlendirme hastalığın şiddetini, hastalığın sağlık durumu üzerindeki etkilerini ve gelecekteki riskleri belirlemeyi amaçlar. Değerlendirmede semptomların mevcut düzeyi, spirometrik olarak hastalığın ağırlığı, alevlenme riski ve komorbidetelerin varlığı incelenir (37).

Semptomların Değerlendirilmesi: KOAH nefes farlığı ile karakterize bir hastalıktır ve bu semptomun değerlendirilmesi için " Değiştirilmiş İngiliz Tıbbi Araştırma Konseyi " (Modified Medical Research Council, mMRC) nefes darlığı skalası kullanılmaktadır (Tablo 2.2). mMRC, sağlık durumu (53) ve mortalite riski (54) ile ilişkilidir.

Tablo 2.2. Modifiye MRC Skalası.

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

Hastalığın birden fazla semptoma neden olmasından ötürü; hastalığa spesifik yaşam kalitesi anketleri veya sağlık durumu anketleri, Saint George's Solunum Anketi (SGRQ-*Saint George's Respiratory Questionnaire*)(55) veya kronik solunum anketi (CRQ-*Chronic Respiratory Questionnaire*)(56) geliştirilmiştir. Ancak çok karışık olmaları nedeniyle rutin kullanım için uygun değildirler. Bu nedenle kısa ve anlaşılır olan KOAH değerlendirme testi (CAT- *COPD Assessment Test*) ve KOAH kontrol anketi (CCQ- *COPD Control Questionnaire*) geliştirilmiştir.

KOAH Değerlendirme Testi (CAT): KOAH değerlendirme testi 8 parametreyi değerlendirerek KOAH'ta sağlık durumunun etkilenmesini ölçen, skorları 0-40 arasında değişen testtir. Testte yer alan sorular, hastalığın günlük yaşama ve sağlık durumuna etkilerini belirlemeyi sağlamaktadır (Şekil 2.4)(57). CAT skorları SGRQ skorlarıyla korelasyon göstermektedir (58).

		SKOR					
Hiç öksürmüyorum	0 1 2 3 4 5	Sürekli öksürüyorum					
Akciğerlerimde hiç balgam yok	0 1 2 3 4 5	Akciğerlerim tamamen balgam dolu					
Göğsümde hiç tıkanma/daralma hissetmiyorum	0 1 2 3 4 5	Göğsümde çok daralma var					
Yokuş veya bir kat merdiven çıktığımda nefesim daralmıyor	0 1 2 3 4 5	Yokuş veya bir kat merdiven çıktığımda nefesim çok daralıyor					
Evdeki hareketlerimde hiç zorlanmıyorum	0 1 2 3 4 5	Evdeki hareketlerimde çok zorlanıyorum					
Akciğerlerimin durumuna rağmen evimden dışarı çıkmaya çekinmiyorum	0 1 2 3 4 5	Akciğerlerimin durumu nedeniyle evimden dışarı çıkmaya çekiniyorum					
Rahat uyuyorum	0 1 2 3 4 5	Akciğerlerimin durumu nedeniyle rahat uyuyamıyorum					
Kendimi çok güçlü/enerjik hissediyorum	0 1 2 3 4 5	Kendimi hiç güçlü/enerjik hissetmiyorum					
			TOPLAM SKOR				

KOAH Değerlendirme Testi ve CAT logosu, GlaxoSmithKline şirketler grubunun ticari markalarıdır.
© 2009 GlaxoSmithKline. Bütün hakları saklıdır.

Şekil 2.4. KOAH Değerlendirme anketi (59).

Spirometrik Değerlendirme: Hava kısıtlanmasına göre KOAH ağırlığının sınıflandırılması Tablo 2.3'te gösterilmiştir.

Tablo 2.3. Bronkodilatör sonrası FEV₁'e göre hava akımı kısıtlanmasının derecelendirilmesi (Bronkodilatör sonrası FEV₁/FVC < %70 olan hastalarda).

GOLD	Spirometri (bronkodilatör sonrası)
I: Hafif	FEV ₁ ≥ %80 (beklenenin)
II: Orta	%50 ≤ FEV ₁ < %80 (beklenenin)
III: Ağır	%30 ≤ FEV ₁ < %50 (beklenenin)
IV: Çok ağır	FEV ₁ < %30 (beklenenin)

Alevlenme Riskinin Değerlendirilmesi: KOAH alevlenme ; hastanın solunum yolu semptomlarında günlük gözlemlenen normal değişikliğin ötesinde ve ilaç değişikliğine yol açan bir kötüleşme ile karakterize akut olay olarak tanımlanmaktadır (60-62). GOLD spirometrik sınıflandırmasına göre hava akım kısıtlanması arttıkça alevlenme, hastaneye yatış ve mortalite artış göstermektedir (37).

Komorbiditelerin değerlendirilmesi: KOAH'ta sık görülen komorbid hastalıklar kardiyovasküler hastalıklar, iskelet kası işlev bozuklukları, metabolik sendrom, osteoporoz, depresyon ve akciğer kanseridir.

KOAH'da Birleşik Değerlendirme

KOAH'ın hastalar üzerindeki etkisini anlamak için, semptomatik değerlendirme spirometrik sınıflandırmayla ve/veya alevlenme riskiyle birlikte ele alınmalıdır (40). Bu değerlendirme Tablo 2.4'te gösterilmiştir.

Tablo 2.4. KOAH' ta Birleşik Değerlendirme.

Risk Hava akım kısıtlanması	4	C	D	≥ 2 veya ≥ 1 hastaneye yatış	Risk Alevlenme öyküsü
	3				
	2	A	B	1 (hastaneye yatışa neden olmayan)	
	1				
		CAT <10	CAT ≥ 10		
		Semptomlar			
		mMRC 0-1	mMRC ≥ 2		

Bu yaklaşıma göre hastalar 4 grupta incelenmektedir:

Grup A: Düşük risk, daha az semptom, GOLD 1 veya 2 (Hafif ya da orta hava akım kısıtlanması) ve/veya yılda 0-1 alevlenme ve mMRC 0-1 derece ya da CAT skoru < 10

Grup B: Düşük risk, daha fazla semptom, GOLD 1 veya 2 (Hafif ya da orta hava akım kısıtlanması) yılda 0-1 alevlenme ve mMRC ≥ 2 derece ya da CAT skoru ≥ 10

Grup C: Yüksek risk, daha az semptom, GOLD 3 veya 4 (Ağır ya da çok ağır hava akımı kısıtlanması) ve/veya yılda ≥ 2 alevlenme ve mMRC 0-1 ya da CAT skoru < 10

Grup D: Yüksek risk, daha fazla semptom, GOLD 3 veya 4 (Ağır ya da çok ağır hava akımı kısıtlanması) ve/veya ≥ 2 alevlenme ve mMRC ≥ 2 ya da CAT skoru ≥ 10

Bu yaklaşıma olası komorbiditelerin değerlendirilmesinin eklenmesi ile birlikte, daha önce yalnızca hava akımı kısıtlamasının şiddetine göre yapılan evrelendirmeye oranla, KOAH hastalığının daha bütüncül değerlendirilmesi amaçlanmaktadır (1).

2.1.7.KOAH Alevlenmesi

KOAH alevlenmesinin tanımı; GOLD 2016 raporuna göre, hastanın solunum yolu semptomlarında günlük gözlemlenen normal değişkenliğin ötesinde ve ilaç değişikliğine yol açan bir kötüleşme ile karakterize akut olaydır (1).

KOAH alevlenmeleri, sık hastane yatışlarına, nökslere ve yeniden hastaneye yatışlara neden olmakta, hastanede yatarken veya taburculuktan kısa bir süre sonra gerçekleşen ölümlere katkıda bulunmaktadır. Yaşam kalitesini dramatik olarak azaltmakta ve KOAH'ın temel özelliği olan akciğer fonksiyonlarındaki ilerleyici azalmayı hızlandırmaktadır. Ayrıca sağlık hizmetlerinin kullanımında artışa ve ciddi ekonomik yüke neden olmaktadır.

KOAH alevlenmelerinde; %50-70 trakeobronşiyal enfeksiyonlar (bakteriyel etkenler %40-50, viral etkenler %30-40, atipik bakteriyel etkenler %5-10), %10 hava kirliliği sorumlu tutulmakla birlikte, %30'unda etiyoloji belirlenmemektedir (63). Enfeksiyonlarda bakteriyel etkenler sıklıkla *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, daha az sıklıkla Gram negatif *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Chlamydia pneumoniae* iken; viral etkenler ise Rhinovirus, respiratuar sinsityal virus, influenza, adenovirus, parainfluenza, coronavirus'dür.

Daha önceden KOAH tanısı alan kişiler özellikle kış aylarında nefes darlığı ile acil servise başvurduğunda pnömoni, pulmoner tromboemboli, pnömotoraks,

plörezi, kot kırıkları/göğüs travması, sedatif ajanların, narkotiklerin ve beta blokerlerin uygunsuz kullanımı, sağ ve/veya sol kalp yetersizliği ya da aritmiler, uzun süreli oksijen tedavisi ile ilgili sorunlar ekarte edildikten sonra alevlenme açısından değerlendirilmelidir.

KOAH alevlenmesinin değerlendirilmesinde farklı sınıflamalar vardır. Bunlardan biri ATS/ ERS tarafından hafiften ağıra doğru düzey I, II ve III olarak gruplandırılma, tanısal işlemlerin ve tedavi yerinin seçiminde yol göstermektedir (Tablo 2.5)(64).

Tablo 2.5. KOAH alevlenmelerinin gruplandırılması (64).

Klinik Öykü	Düzy I (Evde tedavi)	Düzy II (Hastanede tedavi)	Düzy III (Yoğun bakımda tedavi)
Ek hastalık (Kalp yetm, DM, KAH, Karaciğer ve böbrek yetmezliği)	+	+++	+++
Sık alevlenme öyküsü	+	+++	+++
KOAH'ın şiddeti	Hafif/Orta	Orta/Ağır	Ağır
Hemodinamik değerlendirme	Stabil	Stabil	Stabil/ unstabil
Yardımcı solunum kaslarının kullanımı, takipne, paradoksal solunum, siyanoz	Yok	++	+++
Bilinç düzeyinde değişiklik	Yok	Yok	Var

Tablo 2.5."Devam" KOAH alevlenmelerinin gruplandırılması (64).

Sağ kalp yetersizliği bulguları	Yok	++	+++
Başlangıç tedavisinden sonra semptomların sürmesi	Hayır	++	+++

+: muhtemeleen yok, ++:olması olası, +++:büyük olasılıkla

Alevlenmeler sırasında spirometri uygulaması güç olduğu ve yeterince doğru sonuç alınmadığı için tavsiye edilmemektedir (37).

KOAH alevlendirilmelerinde hastanede değerlendirme ve yatış endikasyonları şunlardır (37):

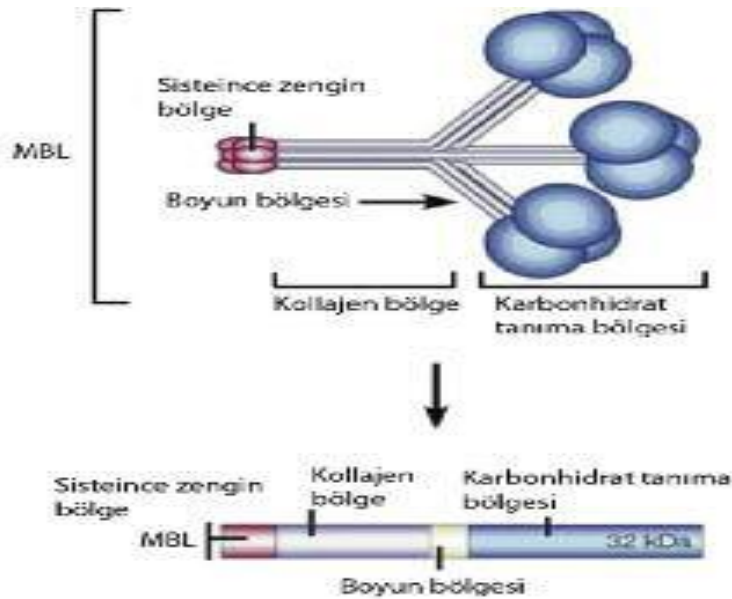
- Semptomların ağırlık derecesinde belirgin artış olması
- Altta yatan ağır KOAH tablosu
- Yeni gelişen fizik muayene bulguları (örn; siyanoz, periferik ödem)
- Alevlenmelerin ilk ilaç tedavisine yanıt vermemesi
- Ciddi komorbiditelerin varlığı (örn; kalp yetmezliği ya da yeni ortaya çıkan aritmiler)
- Sık alevlenmeler
- İleri yaş
- Evde yeterli destek olmaması

KOAH alevlenmeleri, KOAH'ın progresyonunu hızlandırdığından, KOAH ile ilişkili mortaliteleri, hastaneye yatışları ve ekonomik yükü artırdığından alevlenmelerin yönetimi ve tedavisi önemlidir.

2.2. Mannoza Bağlayıcı Lektin (MBL) ve MBL Gen Polimorfizmi

2.2.1. Mannoza Bağlayıcı Lektin'in Yapısı

Doğal immün sistemin bir parçası olan, kollajen benzeri bir serum proteini olan ve primer olarak karaciğerde sentezlenen mannoza bağlayıcı lektin (MBL), kalsiyum bağımlı tip-c lektin olarak tanımlanır. MBL, 96 kDa moleküler ağırlığında, dimerlerden heksamerlere kadar değişebilen, her biri birbirine benzer 32 kDa'lık üç peptit zincirinden oluşan oligomerik yapıya sahiptir (65). Her bir zincir bir hidrofobik boyun bölgesi, bir kollajen bölge ve sisteince zengin N-terminal bölge içerir. Bu üç zincirin kollajen bölgesi klasik üçlü heliks oluşturmak üzere birleşir. Her bir zincir boyun bölgesinde helezon (coiled-coil) yapısı oluşturur ve lektin bölgeleri globüler protein özelliği gösterir. Her bir bölge bir kalsiyum iyonu bağlayarak N-asetil-D-glukozamin, mannoza, N-asetilmannozaamin, fruktoz ve glukoz gibi şekerlerin 3'- ve 4'-OH grupları ile birleşir (66, 67).

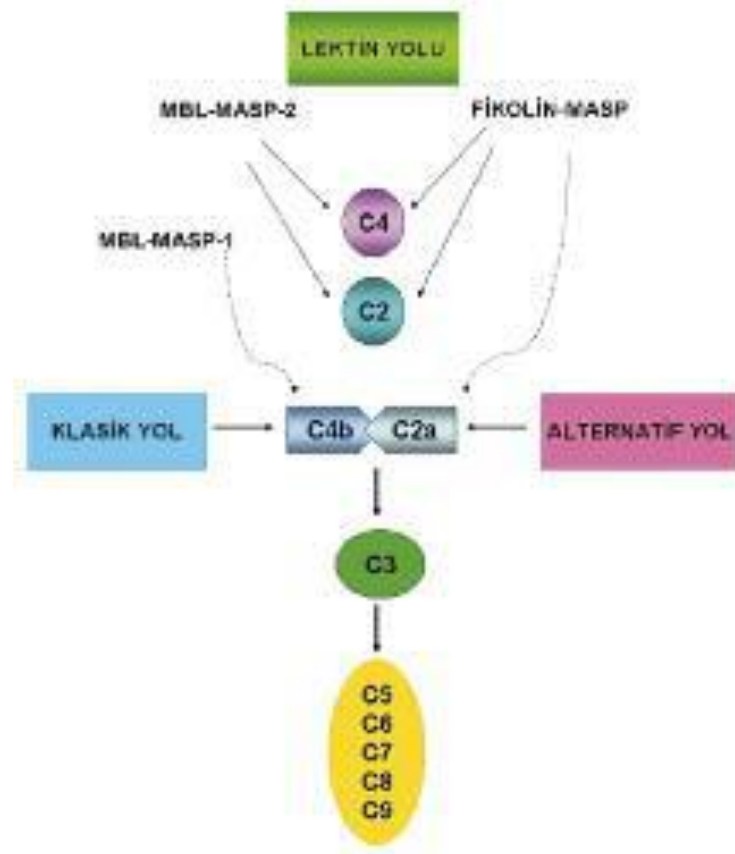


Şekil 2.5. bağlayıcı lektin (MBL)'in yapısı (65).

2.2.2. MBL'nin Fonksiyonları

MBL, birçok patojenin yüzeyindeki N-asetil-D-glukozamin, mannoza, N-asetil mannozaamin, L-fruktoz ve glukozla spesifik olarak bağlanarak onların makrofajlar tarafından fagositozunu sağlamaktadır (opsofagositoz)(68).

MBL, lektin yolu ile kompleman sistemini aktive etmektedir. Lektin yolunda MBL ile ilişkili serin proteazlar (mannose associated serine protease, MASP) olarak bilinen ve MASP 1, MASP-2 ve MASP-3 olarak isimlendirilen moleküller rol oynamaktadır. Bunlardan en önemlisi MBL ile kompleks oluşturan MASP-2'dir. MASP-2, fonksiyonel olarak C1s'ye benzer ve bu molekülün MBL ile yaptığı kompleks hem C4'ü hem de C2'yi parçalayıp, komplemanın klasik yoldan aktivasyonu ile ilişkili olarak C3 konvertazı (C4b2a) oluşturur. Bu yol klasik kompleman yolu ile ortak şekilde ilerler ve neticede membran atak kompleksinin oluşumunu sağlayarak mikroorganizmaların lizisini gerçekleştirir (68-71).

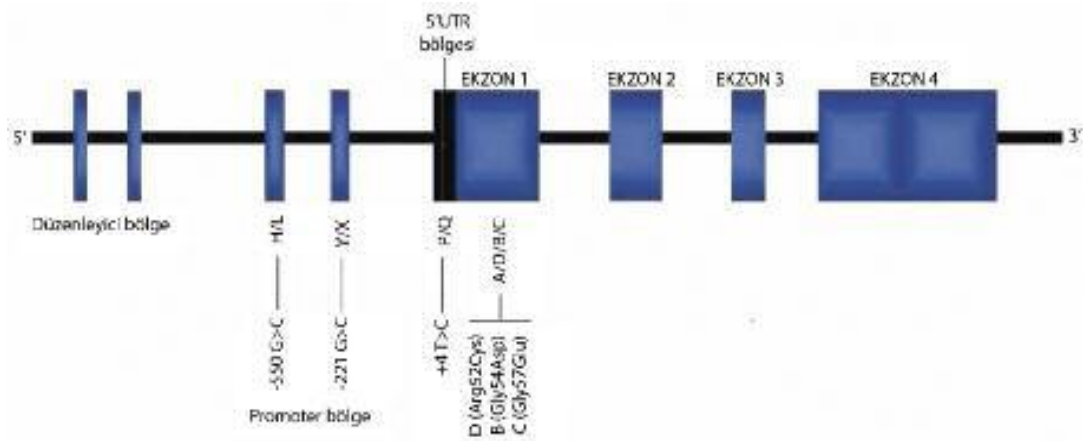


Şekil 2.6. MBL - kompleman aktivasyonu- lektin yolu (70).

MBL'nin inflamasyonda modülatör rol oynadığı, monositlerden TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi sitokinlerin salınımını tetiklediği düşünülmektedir. MBL ayrıca apoptotik hücrelerin ortamdan uzaklaştırılmasında da görev alır.

2.2.3.MBL'nin Moleküler Genetiği

İnsanda MBL geni MBL2 yada kollektin alt aile üyesi 2 ya da COLLEC2 olarak adlandırılmaktadır (72). MBL2 geni 10.kromozomun uzun kolu (q11.2-q21) üzerinde yerleşmektedir. Dört ekzondan oluşur ve toplamda 6321 baz çiftlik nükleotid içermektedir.



Şekil 2.7. MBL geninin yapısı (70).

MBL2 geninin birinci ekzonunda şimdiye kadar üç tip yanlış anlamlı mutasyon saptanmıştır. Bunlar kodon 52'de (CGT@TGT, Arg52Cys, allel D), kodon 54'de (GGC@GAC, Gly54Asp, allel B) ve kodon 57'de (GGA@GAA, Gly57Glu, allel C) meydana gelmekte ve bu değişikliklerden dolayı MBL'nin yapısı bozulmakta ve trimerizasyonu engellenmektedir. Mutant MBL trimerleri dayanıksız oldukları için enzimatik yıkıma uğrayarak serum MBL seviyelerinin düşmesine dolayısıyla da MBL fonksiyonunun kaybına neden olurlar (73-76). Birçok çalışmada MBL2 gen mutasyonları ile serum MBL düzeyleri arasında ilişki bulunduğu gösterilmiştir. MBL eksikliğinin cut off değeri <50 ile <1000 arasında değişmekle birlikte MBL eksikliğinin tanımı net değildir. Mutant bireylerin MBL düzeyi ise oldukça düşükken, normal bireyler için serum MBL seviyesi 500–8000 ng/ml ya da 1000–10.000 ng/ml olarak tanımlanmıştır (77).

Birçok çalışma MBL2 genindeki mutasyonlar ya da serum MBL düzeyi ile; bakteriyel, viral ve fungal enfeksiyonlar, sistemik lupus erimatozus, romatoid artrit, Sjögren sendromu ve Behçet hastalığı gibi romatizmal hastalıklar, tip 1 diabet gibi metabolizma hastalıkları ve transplant rejeksiyonu arasında ilişki olduğunu göstermiştir (78).

Kistik fibrozis hastalığının seyrine MBL yetmezliğinin etkisini inceleyen bir metaanalizde; MBL yetmezliği ile erken kazanılmış *Pseudomonas aeruginosa* enfeksiyonu, düşük solunum fonksiyonları, mortalite ve akciğer transplantasyonu ihtiyaç oranında artış ile ilişkili bulunmuştur (79).

Garred ve arkadaşlarının yaptığı, MBL yetmezliğine neden olan MBL gen polimorfizmlerinin yoğun bakım ünitelerinde erişkin hastalarda sepsis gelişmesi ve ilerlemesi ile ilişkili olup olmadığının araştırıldığı bir çalışmada, MBL varyant allel varlığı sepsis gelişimi, ağır sepsis, septik şok ile ilişkili bulunmuştur (80).

Yine bir çalışmada toplum kökenli pnömoni tanısı ile izlenen hastalarda MBL yetmezliği ile ağır sepsis, akut solunum yetmezliği, çoklu organ yetmezliği gelişimi, yoğun bakım ünitesinde yatış ve mortalite ile ilişkili bulunmuştur (81).

Birbian ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, astım patogeneğinde MBL polimorfizminin rolü olup olmadığı araştırılmış, sonucunda MBL kodon 54 polimorfizmi ile astım arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (82).

Kistik fibrozis, solunum yolu enfeksiyonları ve astım gibi solunum sistemini ilgilendiren hastalıklarla MBL gen polimorfizmi arasında ilişki bulunmasından ötürü KOAH ile olan ilişkisi incelenmiş ve anlamlı ilişki bulunmuştur (83).

Biz de bu bağlamda KOAH'lı hastalar ile mannoz bağlayıcı lektin(MBL) gen polimorfizmi arasındaki ilişkinin incelenmesi, serum MBL düzeylerinin saptanması ve KOAH alevlenme sıklığı ile serum MBL düzeyleri arasındaki ilişkinin incelenmesini amaçladık.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Araştırma Grubu

Bu çalışma Ocak 2015 - Mayıs 2016 tarihleri arasında ESOGÜ Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalına başvuran 80 KOAH'lı olgu ve 60 sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubu arasında yapıldı. Çalışma öncesinde 28/11/2014 tarih ve 2014/11 sayılı etik kurul onayı elde edildi ve çalışmaya katılan hastalara ve kontrol grubuna aydınlatılmış onam belgesi ile izinleri alındı.

Çalışmaya solunum fonksiyon testi ile GOLD kılavuzuna göre KOAH tanısı konulan ve son 6 hafta içinde akut eksaserebasyonda olmayan hastalar dahil edildi. KOAH, öykü ve fizik muayene bulguları eşliğinde, GOLD tanı kriterlerini sağlaması ile postbronkodilatatör FEV₁/FVC düzeyinin %70'in altında olması olarak tanımlandı. Akut atak tıbbi tedavide değişikliğe yol açan solunum semptomlarında kötüleşme olarak tanımlandı. Kanser, tüberküloz (enfeksiyöz nedenler) gibi ek komorbid özelliği olanlar çalışmaya dahil edilmedi. Kontrol grubu, bilinen bir akciğer ve diğer sistem patolojisi olmayan sağlıklı kişilerden seçildi.

Çalışmaya katılan tüm bireylerin öyküsü alındı ve postero-anterior akciğer grafileri elde edildi. Öyküde kişilerin yaşı, cinsiyeti, sigara içme durumu, ek hastalık varlığı, KOAH'lı hastalarda ayrıca kaç yıldır KOAH hastası olduğu, atak durumu, hastaneye yatış öyküsü sorgulandı. KOAH'lı hastalar ve sağlıklı bireylere solunum fonksiyon testi yapıldı. Tüm bireylerden venöz kan örnekleme elde edildi. Spirometri, Medist Medikal Teknoloji Ürünleri FlowhandyZAN100USB ile yapıldı. FEV₁, FVC, FEV₁/FVC düzeyleri spirometri standartlarını ortaya American Thoracic Society (ATS) kriterlerine göre belirlendi (84). Alınan venöz kan örnekleri Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında aşağıda belirtilen aşamalara göre çalışıldı.

MBL Gen Polimorfizmi ve Serum MBL Düzeyi Çalışma Aşamaları:

1. KOAH hastaları ve sağlıklı kontrollerin periferik venlerinden EDTA'lı tüpe 10ml ve biyokimya tüpüne 4 ml kan alımı.
2. Kandan PureLink™ Genomic DNA İzolasyon Kiti kullanılarak genomik DNA izolasyonu.
3. DNA'nın miktar ve kalitesinin Nanodrop (Mikro Ölçekli Spektrofometre) ile ölçümü.
4. İzole edilen DNA'dan MBL2 geninin ekzon 1 bölgesindeki 54B alel bölgelerinin PCR'da çoğaltılması.
5. Elde edilen PCR ürünlerinin agaroz jel elektroforezine tabi tutulması ve UV translüminatörde görüntülenmesi.
6. MBL2-54B alel gen bölgelerinin uygun restriksiyon enzimleri ile kesimi.
7. Elde edilen kesim ürünlerinin agaroz jel elektroforezinde yürütülmesi ve UV translüminatörde görüntülenmesi.
8. Çekilen jel görüntülerinden faydalanılarak genotiplerin belirlenmesi.
9. Serum MBL düzeyinin ELİSA yöntemi ile belirlenmesi ve istatistiksel analizlerin gerçekleştirilmesi.

3.1.2. Kullanılan cihaz ve gereçler

1. Buzdolabı (Bosch)(-20 °C)
2. Soğutmalı santrifüj (Scanspeed 1580 R)
3. Su banyosu (GFL)
4. Hassas terazi (Presica 125 A)
5. Vorteks (IKA-MS2 minishaker)
6. Derin dondurucu
7. Mikro dalga fırın (Arçelik MD 55I)
8. Elektroforez için güç kaynağı (Bio-Radpower Pac-3000)

9. PCR cihazı (Runik Thermalcyclers)(Sacem)
10. UV translüminatör (Syngene)
11. Otomatik pipet seti (Bio Hit)
12. Çeker ocak
13. Mikro ölçekli spektrofometre (ATCGene ASP-3700)
14. Buz makinesi (Hoshizaki FM-120 DE)
15. UV-VIS Plate Okuyucu Spektrofotometre (Thermo MULTISKAN Go)

3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Malzemeler

1. Deiyonize su (dH₂O)
2. DNA örneklerini saklama kutusu
3. Polypropilen kapalı tüp (0.2 ml)
4. Polypropilen kapaklı tüp (1.5 ml)
5. Steril eldiven
6. Steril mikropipet ucu (100-1000 µl)
7. Steril mikropipet ucu (10-100 µl)
8. Steril mikropipet ucu (0.5-10 µl)
9. TBE Buffer
10. PCR için Master Mix
11. MBL2 54B aleli için Primer çifti
12. Agaroz
13. Nükleik asit jel boyası
14. Marker (50 baz çifti)
15. Human Mannoos binding protein (MBP) ELİSA Kit
16. Invitrogen DNA izolasyon kiti

3.2.Yöntem

3.2.1.DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için PureLink™ Genomic DNA Mini Kit (Invitrogen Corporation, Carlsbad, California, USA) kullanıldı.

İzolasyon Protokolü:

- Su banyosu 55°C olarak ayarlandı.
- EDTA'lı tüpe alınmış taze kandan steril 2 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne 200 µl kondu. Eğer kan +4°C'de birkaç gün bekletilmiş ise yavaşça alt üst edilerek karıştırıldıktan sonra tam kan halinde mikrosantrifüj tüpüne konuldu.
- Kit solüsyonları içerisinde bulunan proteinaz K'dan 20 µl, mikrosantrifüj tüpündeki örnek üzerine eklendi.
- Yine kit solüsyonları içerisinde bulunan RNAaz A'dan 20 µl, örnek üzerine eklendi. Karışım iyice vortekslendi. Daha sonra karışımın oda sıcaklığında 2 dakika inkübasyonu yapıldı.
- Karışım üzerine kit solüsyonları içerisinde bulunan PureLink™ Genomic Lysis/Binding Buffer'dan 200 µl eklenerek homojen bir solüsyon elde etmek için mikrosantrifüj tüpü iyice vortekslendi.
- Proteinlerin parçalanmasını teşvik etmek için karışım su banyosunda 55°C'de 10 dakika inkübe edildi.
- Inkübasyondan sonra lizat üzerine 200 µl %98,9'luk etil alkol eklendi. Homojen bir solüsyona ulaşmak için mikrosantrifüj tüpü 5 saniye iyice vortekslendi.
- Kit ambalajı içerisinde bir toplama tüpü içerisine yerleştirilmiş PureLink™ Spin Column çıkarıldı.
- PureLink™ Genomic Lysis/Binding Buffer ve etil alkol ile birlikte yaklaşık olarak 640 µl gelen lizat, mikrosantrifüj tüpünden alınarak PureLink™ Spin Column içerisine aktarıldı.
- İçerisinde lizat bulunan PureLink™ Spin Column, oda sıcaklığında 1 dakika 10.000 g'de santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrasında içerisinde atık solüsyon bulunan toplama tüpü atıldı. PureLink™ Spin Column, kit ambalajı içerisinde bulunan yeni bir toplama tüpü içerisine yerleştirildi.

- Yeni bir toplama tüpüne yerleştirilmiş PureLink™ Spin Column içerisine kit solüsyonları ile birlikte verilen ve protokol öncesinde etil alkol ile hazırlanmış 500 µl Wash Buffer 1 eklendi.
- PureLink™ Spin Column oda sıcaklığında 1 dakika 10.000 g'de santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrasında içerisinde solüsyon biriken toplama tüpü atılarak PureLink™ Spin Column yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.
- PureLink™ Spin Column içerisine kit solüsyonları ile birlikte verilen ve protokol öncesinde etil alkol ile hazırlanmış 500 µl Wash Buffer 2 eklendi.
- PureLink™ Spin Column oda sıcaklığında maksimum hızda 3 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrasında içerisinde solüsyon biriken toplama tüpü atıldı. PureLink™ Spin Column, 2 ml'lik, kapağı koparılmış, steril mikro santrifüj tüpü içerisine yerleştirilerek kapağı açıldı ve oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildi.
- PureLink™ Spin Column içerisine 50 µl PureLink™ Genomic Elution Buffer eklendi. Oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildi.
- PureLink™ Spin Column oda sıcaklığında maksimum hızda 1 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrasında, PureLink™ Spin Column altında bulunan mikrosantrifüj tüpü saflaştırılmış genomik DNA içeren yaklaşık olarak 50 µl çözeltiliye sahipti.
- Üst kısımdaki PureLink™ Spin Column, DNA içeren mikrosantrifüj tüpünden çıkarılarak steril yeni bir mikrosantrifüj tüpüne yerleştirildi.
- PureLink™ Spin Column içerisine 50 µl PureLink™ Genomic Elution Buffer eklendi. Oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edildi.
- Yeni santrifüj tüpüne yerleşik PureLink™ Spin Column, oda sıcaklığında maksimum hızda 1,5 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüj sonrasında PureLink™ Spin Column altında bulunan mikrosantrifüj tüpü saflaştırılmış genomik DNA içeren yaklaşık olarak 50 µl çözeltiliye sahipti.
- Saflaştırılmış genomik DNA içeren birinci ve ikinci santrifüj tüpleri birleştirilerek genotip analiz zamanına kadar -20°C'de saklandı.

- İlk 50 µl'lik elüsyon muamelesi, silikaya bağlanmış DNA'nın yaklaşık olarak %80'ni elde etmekte, ikinci 50 µl'lik elüsyon muamelesi ise geri kalan kısmı yakalamayı sağlamaktadır.

3.2.2. İzole Edilen DNA Örneklerinin PCR ile Amplifikasyonu

Kullanılan Çözeltiler:

Master miks

PCR karışımı için içinde taq polimeraz, dNTP karışımı ve uygun tampon çözeltiler bulunan PCR master miks kullanıldı. Master miks içeriği şu şekildedir; 20 mM Tris-HCl (pH8,9), 1.8 mM MgCl₂, 22 nM NH₄Cl, 22 mM KCl, 0,2 mM dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dNTP, dTTP), %5'lik gliserol, %0,06 IGEPAL CA-630, %0,05 Tween 20, XyleneCyanol FF, Tartrazine, 25 ünit/ml OneTaq DNA polimeraz.

Primer

MBL2 54B alel gen bölgesi için üretici firmadan elde edilen liyofilize primerler ddH₂O ile 100 µM'lik konsantrasyonda hazırlandı ve stok primer çözeltisi olarak kullanıldı. Daha sonra bu çözeltiden 5 µM ve 10 µM konsantrasyonda dilüsyon yapıldı ve MBL2 54B alel gen bölgesi için 10 µM derişimindeki çözeltiler kullanıldı. Çalışmamızdaki MBL2 54B alel gen bölgesi için kullanılan primer dizileri şu şekildedir:

Forward: 5'-GTAGGACAGAGGGCATGCT-3'.

Reverse: 5'-CAGGCAGTTTCCTCTGGAAGG-3'.

Amplifikasyon Şartları:

Araştırma grubu bireylerinden elde edilen DNA örneklerinin PCR ile amplifikasyonu için 25 µl lik karışım hazırlandı. PCR amplifikasyon hazırlığı DNA, PCR miks, forward-reverse primer ve su ile hazırlandı ve Thermal Cycler cihazında yürütüldü. PCR reaksiyonları, primer dizileri ve annealing ısıları aşağıda gösterilmiştir:

Tablo 3.1. PCR reaksiyonları, primer dizileri ve annealing ısıları.

Bileşen	Miktar
Master mix	12.5µl
Primer F(5-10µM)	0.5µl
Primer R(5-10µM)	0.5µl
ddH ₂ O	10.5µl
DNA	1µl
PCR reaksiyonu	25µl

Her bir DNA örneği için MBL2-54B primerleri kullanılarak PCR işlemi yapıldı.

Tablo 3.2. PCR protokolü.

Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
94°C de	30 sn	-
94°C de	20 sn denatürasyon	30 Döngü
61.3°C de	1 dk bağlanma	30 Döngü
68°C de	90 sn uzama	30 Döngü
68°C de	5 dk son bağlanma	-

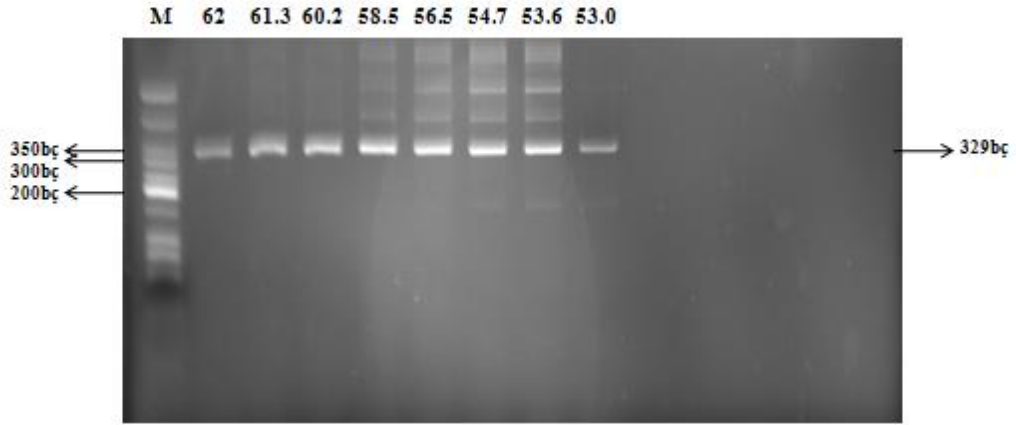
3.2.3. Agaroz Jel Elektrofrez

Bu çalışmada PCR ile çoğaltılmış ürünlerin tanımlanması için %3'lük agaroz hazırlandı ve örnekler agaroz jel elektrofrez yöntemi tabi tutuldu. %3'lük agaroz jelin hazırlanması için 3 gram agaroz tartılıp bir beher içerisinde TBE buffer ile 100ml'ye tamamlandı. Mikrodalga fırında kaynatıldı. Yaklaşık 60 °C'ye kadar soğuduktan sonra üzerine 5 µl nükleik asit jel boyası eklendi. Elektrofrez başlamadan önce tank, taraklar ve jel yatağı temizlendi. Jel donduktan sonra üzeri 1XTBE Buffer ile dolduruldu. 14 µl PCR ürünü alınıp jeldeki kuyucuklara yüklendi. Yükleme işlemi bittikten sonra elektrodlar yerleştirilerek 100 voltta 30dk yürütüldü. Elektrofrez tamamlandıktan sonra jel CCD kamera altında incelenerek fotoğrafı çekildi.

3.2.4. Jelin CCD Kamera ile Değerlendirilmesi

MBL2 geninin 54B bölgesinin toplam uzunluğu 329 bp'dir. Bu bölge için yapılan gradiyent çalışmasında jelde sırasıyla 62, 61.3, 60.2, 58.5, 56.5, 54.7, 53.6,

53.0 °C sıcaklıklar kullanılarak amplifikasyon yapılmıştır. Amplifikasyon sonucunda şekilde görüldüğü gibi 329 bç'lik bantlar elde edilmiştir. En parlak bantın gözlemlendiği sıcaklık bağlanma sıcaklığı olarak seçilmiştir. Bu sıcaklık MBL2 geninin 54B bölgesi için 61.3 °C olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.1. MBL2 54B gen bölgesinde optimum PCR ürünü elde etmek için yapılan PCR çalışmaları.

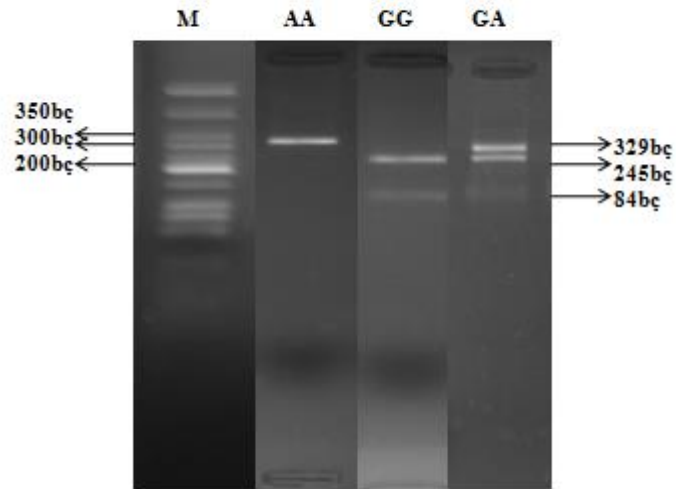
MBL2 54B bölgesi için forward ve reverse primerler uygun bölgelere yerleştirildiğinde oluşam tam dizi 329 bç'dir.

MBL2 54B bölgesinin restriksiyon enzimi (Ban I) kesimi için hazırlanan kesim şartları ve miktarları aşağıda gösterilmiştir:

Tablo 3.3. Ban I kesimi için hazırlanan kesim şartları ve miktarları.

Malzeme Adı	Miktarı (μ l)
Cutsmart	1.5
Ban I	0.05
Su	1.45
PCR ürünü	12

Ban I enzimi ile kesim sırasında yabancı tip allel (G alleli) varlığında jelde iki kesim bölgesi (245 bç ve 84 bç) oluşmaktadır. Polimorfizm görülüp G alleli A alleli ile yer değiştirdiğinde ise tek kesim bölgesi (329 bç) oluşmaktadır.



Şekil 3.2. Ban I enzimi ile kesilen MBL2 54B gen bölgesi.

3.2.5. Serum MBL Düzeyinin Belirlenmesi

Hasta ve kontrol grubundan alınan kanlar 5 ml'lik jelli vakumlu tüplere konuldu. Daha sonra serum için 2000-3000 RPM'de 20 dk santrifüj edildi. Süpernatantlar dikkatlice toplandı. Daha sonra elde edilen serumlar -20 °C'de saklandı. Serum MBL düzeyleri ELİSA Human Mannan binding protein (MBP) ELİSA Kit (Shanghai, Çin) protokolüne göre hesaplandı. Örnekler, standartlar ve reaktanlar kit protokolüne uygun olarak hazırlandı. Hazırlanan örnekler ve standartlara biotin boyalı ikincil antikorlar eklendi ve 60 dk 37°C'de inkübasyona bırakıldı. Plate 5 kez yıkandı. Daha sonra kromojen A ve B eklendi. 10 dk 37°C'de bekletildi. Sonrasında durdurma solüsyonu eklendi. Örnekler 10 dk içinde Thermo MULTISKAN Go (ABD) cihazında 450 nm'de okutuldu. Sonuçlar oluşturulan standart eğrisine göre hesaplanarak ng/ml olarak elde edildi.

3.3. İstatiksel Analiz

Sürekli veriler Ortalama \pm Standart Sapma ve medyan (Q1 - Q3) olarak verilmiştir. Kategorik veriler ise yüzde (%) olarak verilmiştir. Verilerin normal dağılıma uygunluğunun araştırılmasında Shapiro Wilk testinden yararlanılmıştır. Normal dağılıma uygunluk göstermeyen grupların karşılaştırılmasında, grup sayısı iki olan durumlar için Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. Oluşturulan çapraz tabloların analizinde Pearson Ki-Kare ve Monte Carlo Pearson (Kesin) Ki-Kare analizleri kullanılmıştır. Risk faktörlerin belirlenmesinde İkili (Binary) Lojistik Regresyon analizi kullanılmıştır. Bağımsız belirteçler için uygun kesim noktasının belirlenebilmesi ve duyarlılık ile özgüllük değerlerin hesaplanması için ROC (Receiver-Operating Characteristics) analizi kullanılmıştır. Analizlerin uygulanmasında IBM SPSS Statistics 21.0 (IBM Corp. Released 2012. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 21.0. Armonk, NY: IBM Corp.) ve MedCalc 16 programlarından yararlanılmıştır. İstatistiksel önemlilik için $p < 0.05$ değeri kriter kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmaya 80 KOAH'lı hasta ve 60 sağlıklı birey olmak üzere toplamda 140 birey alınmıştır. KOAH'lı hastaların 3'ü (%3.8) kadın, 77'si (%96.3) erkekti. Sağlıklı bireylerin de 10'u (%16.7) kadın, 50'si (%83.3) erkekti. KOAH hastalarının ortalama yaşı 63.83 ± 8.89 , sağlıklı bireylerin ortalama yaşı da 63.30 ± 8.02 idi. Hasta ve kontrol grubu yaş, sigara içme süresi (paket/yıl), post-bronkodilatör FEV₁ yüzdesi, FEV₁ litresi, post-bronkodilatör FEV₁/FVC yüzdesi bakımından değerlendirilmiştir (Tablo 4.1). Hasta ve kontrol grubunun yaşları arasında istatistiksel açıdan fark yoktu ($p=0.719$). Beklenildiği gibi hasta grubunda post-bronkodilatör FEV₁ yüzdesi, FEV₁ litresi, post-bronkodilatör FEV₁/FVC yüzdesi kontrol grubuna göre daha düşük, paket/yıl sigara içme süresi daha yüksek bulundu (Tablo 4.1).

KOAH grubunda GOLD evrelemesi dağılımına bakıldığında ağırlıklı olarak D grubu vardı (%47). KOAH'lıların 26 tanesi (%32.5) oksijen konsantratörü, 7 tanesi (%8.8) BPAP cihazı kullanmaktaydı. KOAH'lıların 27'si halen sigara içen gruptayken, 53'ü sigarayı bırakan gruptaydı. Kontrol grubunun 31'i sigara içen gruptayken, 29'u sigara içmeyen gruptaydı.

Tablo 4.1. Çalışmaya katılan KOAH ve sağlıklı kontrollerin demografik özellikleri.

	Ortalama ± Standart Sapma		χ^2 ;p	
	Medyan (Q1 – Q3)			
	Kontrol (n=60)	KOAH (n=80)		
Yaş	63.30 ± 8.02 64.50 (59.00 - 69.00)	63.83 ± 8.89 64.00 (57.25 - 70.00)	0.719*	
Sigara (Paket Yıl)	12.48 ± 14.83 5.00 (0.00 - 25.00)	41.66 ± 18.92 40.00 (30.00 - 50.00)	<0.001*	
FEV ₁ (%)	95.12 ± 13.09 94.50 (84.50 - 102.75)	40.24 ± 17.38 37.50 (25.00 - 53.00)	<0.001*	
FEV ₁ (litre)	3.34 ± 0.62 3.37 (2.93 - 3.78)	1.14 ± 0.51 1.01 (0.70 - 1.41)	<0.001*	
FVC (litre)	4.01 ± 0.77 4.00 (3.53 - 4.60)	2.12 ± 0.73 1.90 (1.57 - 2.67)	<0.001*	
FEV ₁ /FVC	83.48 ± 4.67 84.00 (80.00 - 87.00)	53.08 ± 11.19 55.00 (43.25 - 61.00)	<0.001*	
	n (%)	n (%)		
Cinsiyet	Kadın	10 (% 16.7)	3 (% 3.8)	5.344
	Erkek	50 (% 83.3)	77 (% 96.3)	0.021**

* Bağımsız Örnek t Testi

** Pearson Ki-Kare Testi

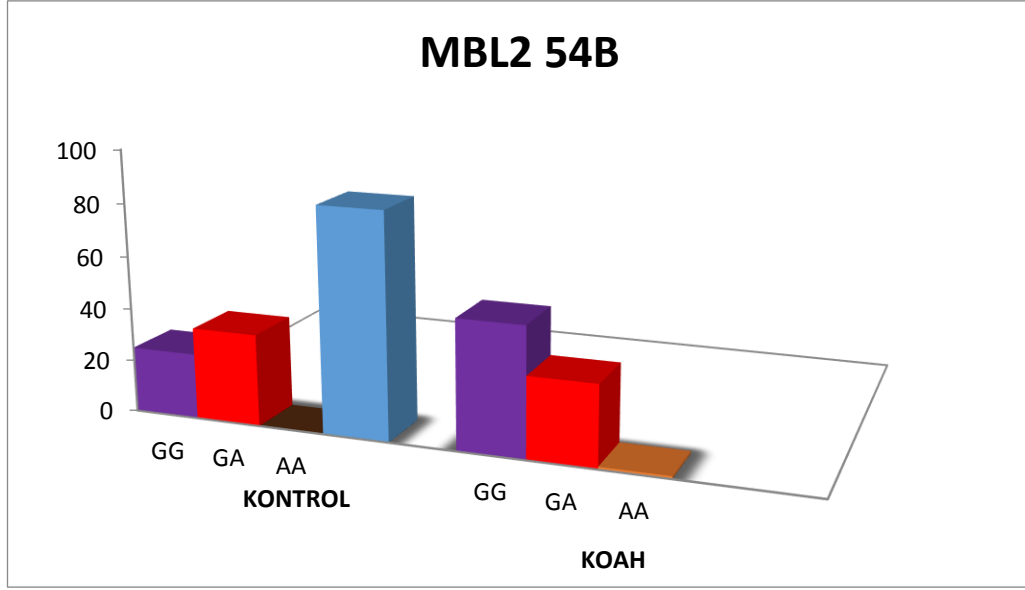
Bu çalışmada normal (wild) tip alel G, defektif tip alel ise A olarak bulundu. Yani GG genotipine sahip bireyler normal genotipe sahip iken, AA ve GA genotipine sahip bireyler ise mutasyonlu tipe sahip olarak bulundu. Çalışma sonunda Tablo-10'da görüldüğü gibi 80 KOAH hastasından oluşan grupta MBL2 54B polimorfizmi açısından, 127 G aleli (%79.37) ve 33 A aleli (%20.63) olduğu ortaya kondu. Kontrol grubunda ise 85 G aleli (%70.83) ve 35 A aleli (%29.17) tespit edildi.

Tablo 4.2. KOAH hastaları ve kontrollerde MBL2 54B polimorfizmi genotipleri.

	N	GENOTİP			p
		GG(%)	GA(%)	AA(%)	
KONTROL	60	25(%41.7)	35(% 58.3)	0(%0)	0.026*
KOAH	80	48(%60)	31(%38.75)	1(%1.25)	

* Pearson Ki-Kare Testi

Genotip çalışması değerlendirildiğinde KOAH grubunda 1 (% 1.25) kişide AA genotipi, 31 (%38.75) kişide GA genotipi, 48 (%60) kişide GG genotipi belirlenmiştir. Kontrol grubunda 0 (%0) kişide AA genotipi, 25 (%41.7) kişide GG genotipi, 35 (%58.3) kişide GA genotipi belirlenmiştir (Tablo 4.2)(Şekil 4.1). Genotip dağılımları açısından KOAH hastaları ve sağlıklı bireyler arasında anlamlı bir fark vardı (p= 0.026).



Şekil 4.1. MBL2-54B polimorfizmi genotip grafiği.

KOAH grubunda genotip dağılımlarına göre yaş, FEV₁ yüzdesi, FEV₁ litresi, FEV₁/FVC yüzdesi, serum MBL düzeyleri incelendiğinde aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 4.3). KOAH hastalarında GA genotipine sahip olanlar 31, GG genotipine sahip olanlar 48 idi. AA genotipi 1 tane olduğu için bu birim istatistiksel analizlerden çıkarılmıştır. Her iki genotipte de erkek cinsiyet daha sıktı ve GOLD evrelemesi açısından her iki grupta benzer dağılım vardı.

Tablo 4.3.KOAH hastalarının genotip dağılımlarına göre demografik özellikleri.

		Ortalama ± Standart Sapma		χ^2 ;p	
		Medyan (Q1 – Q3)			
		GA (n=31)	GG (n=48)		
Yaş		65.58 ± 7.19 65.00 (60.00 - 70.00)	62.81 ± 9.81 60.50 (56.00 - 70.00)	0.180*	
FEV1 (%)		43.29 ± 19.89 37.00 (27.00 - 62.00)	38.69 ± 15.42 38.00 (24.25 - 48.00)	0.252*	
FEV1		1.21 ± 0.60 1.01 (0.72 - 1.58)	1.11 ± 0.45 1.01 (0.70 - 1.39)	0.367*	
FVC		2.15 ± 0.82 1.78 (1.57 - 2.87)	2.12 ± 0.68 2.01 (1.55 - 2.59)	0.847*	
FEV1/FVC		55.35 ± 11.89 56.00 (47.00 - 64.00)	51.85 ± 10.60 55.00 (43.00 - 58.00)	0.176*	
Sigara (Paket Yıl)		37.81 ± 15.33 40.00 (30.00 - 46.00)	44.50 ± 20.69 40.00 (30.00 - 50.00)	0.126**	
Serum MBL Düzeyi (ng/ml)		491.02 ± 209.65 490.86 (417.31 - 576.67)	516.15 ± 331.33 450.38 (396.26 - 537.49)	0.708**	
		n (%)	n (%)		
Cinsiyet	Kadın	2 (% 6.5)	1 (% 2.1)	0.558****	
	Erkek	29 (% 93.5)	47 (% 97.9)		
KOAH Evresi	A	12 (% 38.7)	13 (% 27.1)	0.687*****	
	B	2 (% 6.5)	5 (% 10.4)		
	C	3 (% 9.7)	7 (% 14.6)		
	D	14 (% 45.2)	23 (% 47.9)		
Komorbidite	HT	Var	8 (% 25.8)	13 (% 27.1)	0.016
		Yok	23 (% 74.2)	35 (% 72.9)	0.900****
	DM	Var	3 (% 9.7)	4 (% 8.3)	0.042
		Yok	28 (% 90.3)	44 (% 91.7)	0.837****
	KAH	Var	10 (% 32.3)	4 (% 8.3)	7.394
		Yok	21 (% 67.7)	44 (% 91.7)	0.007****
	KY	Var	1 (% 3.2)	2 (% 4.2)	0.046
		Yok	30 (% 96.8)	46 (% 95.8)	0.831****

* Bağımsız Örnek t Testi ** Mann Whitney U Testi ***Fisher's Kesin (Exact) Ki-Kare Testi

**** Pearson Kesin (Exact) Ki-Kare Testi

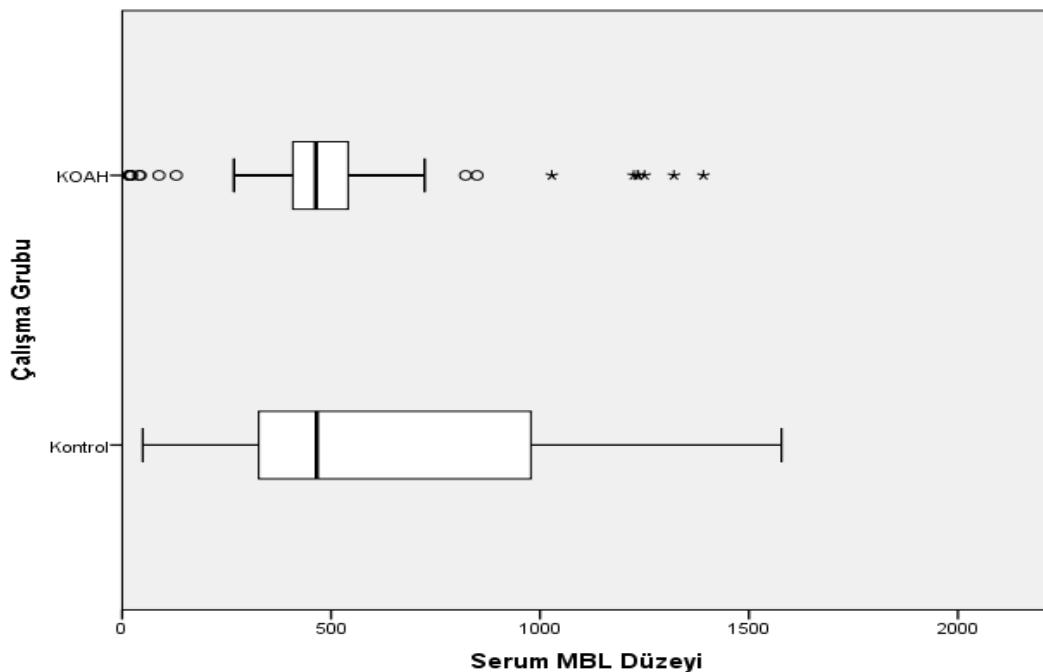
KOAH ve kontrol grubunun ortalama serum MBL düzeyleri Tablo4.4'te gösterilmiştir. KOAH grubunun ortalama serum MBL düzeyi 506.39 ± 286.62 , kontrol grubunun ortalama serum MBL düzeyi 657.53 ± 430.62 idi. KOAH hastaları ve sağlıklı bireyler arasında ortalama serum MBL düzeyleri açısından anlamlı farklılık saptandı ($p=0.021$). Başka bir deyişle ortalama serum MBL düzeyleri karşılaştırıldığında KOAH hastaları, sağlıklı bireylere göre daha düşük ortalama serum MBL düzeylerine sahipti.

Tablo 4.4. KOAH ve kontrol grubunun serum MBL düzeyleri.

	Ortalama \pm Standart Sapma		p*
	Medyan (Q1 - Q3)		
	Kontrol (n=60)	KOAH (n=80)	
Serum MBL Düzeyi (ng/ml)	657.53 \pm 430.62 465.83 (326.73 - 978.66)	506.39 \pm 286.62 463.84 (408.09 - 541.12)	0.021

* Bağımsız Örnek t Testi

KOAH grubunun ve sağlıklı kontrol grubunun serum MBL düzeylerinin (ng/ml) dağılımı Şekil 4.2'de gösterilmiştir.



Şekil 4.2. KOAH ve kontrol grubunun serum MBL düzeylerinin dağılımı.

KOAH ve kontrol grubunda genotip dağılımlarına göre ortalama serum MBL düzeylerini incelediğimizde aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo 4.5). Çalışmada AA genotipine sahip 1 tane KOAH hastası olduğu için istatistiksel analizler sürecinde bu birim çalışmadan dışlanmıştır.

Tablo 4.5. KOAH ve kontrol grubunda genotip dağılımlarına göre serum MBL düzeyleri.

		SERUM MBL DÜZEYİ				p*
		Ortalama ± Standart Sapma	p*	Ortalama ± Standart Sapma		
		Medyan (Q1 – Q3)		p*	Medyan (Q1 – Q3)	
		Min – Max	p*		Min – Max	
		Kontrol (n=60)		p*	KOAH (n=79)	
Genotip	GA (n= 35)	661.18 ± 445.53 464.19 (304.03 - 1020.70) 49.25 – 1577.58	0.939		GA (n= 31)	491.02 ± 209.65 490.86 (417.31 - 576.67) 16.70 – 1028.23
	GG (n= 25)	652.43 ± 417.86 467.47 (375.94 - 760.97) 308.49 – 1524.46		GG (n= 48)	516.15 ± 331.33 450.38(396.26-537.49) 18.14 – 1391.08	
	Toplam	657.53 ± 430.62		Toplam	506.28 ± 288.45	

* Mann Whitney U Testi

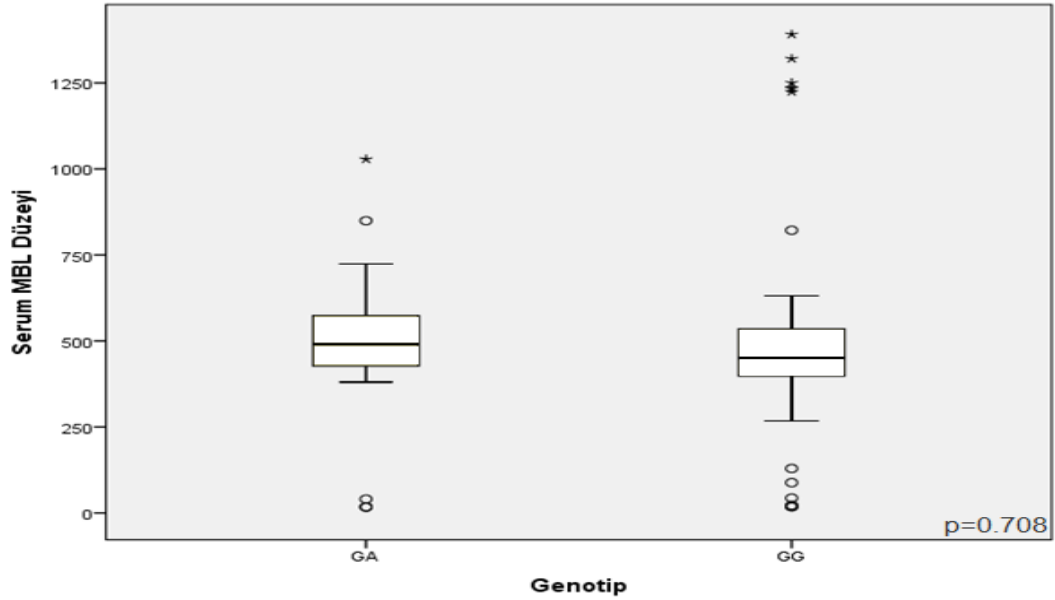
KOAH'lı hastaların 38'i (% 47.5) iki veya daha çok atak, 42'si (%52.5) ikiden daha az atak geçirmişlerdi. Az atak geçiren KOAH hastalarının ortalama yaşları 62.7±9.04 iken, çok atak geçiren KOAH hastalarının ortalama yaşları 65.05±8.68 idi. Az atak geçirenler ile sık atak geçirenler arasında FEV₁ yüzdesi, FEV₁ litresi, sigara paket/yıl bakımından anlamlı farklılık vardı. Sık atak geçirenlerde GOLD evrelemesi dağılımına bakıldığında ağırlıklı olarak D grubundaydılar. Az atak geçirenler ve sık atak geçirenler komorbiditeler açısından değerlendirildiğinde her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı. Atak sayısı ile serum MBL düzeyi arasındaki ilişki incelendiğinde anlamlı fark bulunamadı (p=0.157)(Tablo 4.6).

Tablo 4.6. KOAH hastalarının atak sıklığına göre demografik özellikleri.

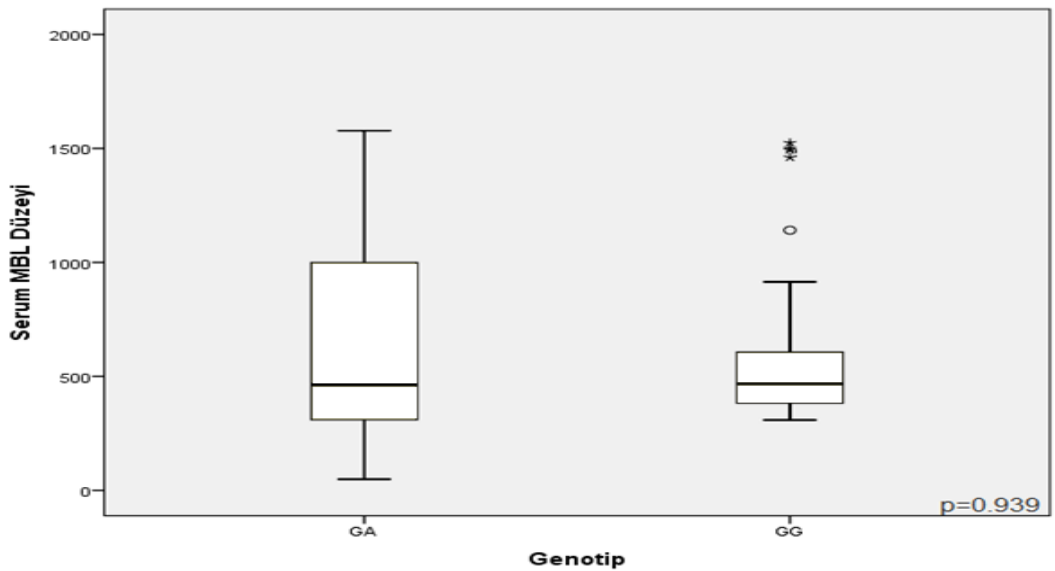
	Ortalama ± Standart Sapma		χ^2 ;p		
	Medyan (Q1 – Q3)				
	Az Atak (<2) (n=42)	Sık Atak (≥2) (n=38)			
Yaş	62.71 ± 9.04 61.50 (57.00 - 69.25)	65.05 ± 8.68 65.00 (58.00 - 71.00)	0.243*		
FEV1 (%)	44.88 ± 18.60 41.00 (29.75 - 59.50)	35.11 ± 14.48 34.50 (22.75 - 40.75)	0.010*		
FEV1	1.28 ± 0.54 1.18 (0.82 - 1.76)	0.99 ± 0.44 0.89 (0.67 - 1.13)	0.011*		
FVC	2.29 ± 0.79 2.16 (1.62 - 2.94)	1.94 ± 0.62 1.76 (1.47 - 2.36)	0.034*		
FEV1/FVC	55.29 ± 11.28 57.00 (46.75 - 62.00)	50.63 ± 10.71 52.00 (42.75 - 56.25)	0.063*		
Sigara (Paket Yıl)	37.71 ± 14.63 40.00 (30.00 - 40.00)	46.03 ± 22.14 45.00 (30.00 - 51.75)	0.049*		
Serum MBL Düzeyi (ng/ml)	475.76 ± 271.45 452.42 (404.31 - 514.52)	540.24 ± 302.51 485.05 (407.59 - 634.89)	0.157**		
	n (%)	n (%)			
Cinsiyet	Kadın	2 (% 4.8)	1 (% 2.6)	1.000****	
	Erkek	40 (% 95.2)	37 (% 97.4)		
KOAH Evresi	A	25 (% 59.5)	0 (% 0.0)	48.680 <0.001****	
	B	7 (% 16.7)	0 (% 0.0)		
	C	3 (% 7.1)	7 (% 18.4)		
	D	7 (% 16.7)	31 (% 81.6)		
Komorbidite	HT	Var	12 (% 28.6)	10 (% 26.3)	0.051
		Yok	30 (% 71.4)	28 (% 73.7)	0.821****
	DM	Var	4 (% 9.5)	3 (% 7.9)	0.066
		Yok	38 (% 90.5)	35 (% 92.1)	0.797****
	KAH	Var	8 (% 19.0)	7 (% 18.4)	0.005
		Yok	34 (% 81.0)	31 (% 81.6)	0.943****
	KY	Var	1 (% 2.4)	2 (% 5.3)	0.459
		Yok	41 (% 97.6)	36 (% 94.7)	0.498****

* Bağımsız Örnek t Testi ** Mann Whitney U Testi ***Fisher's Kesin (Exact) Ki-Kare Testi **** Pearson Kesin (Exact) Ki-Kare Testi

KOAH hastalarında ve kontrol grubunda genotip dağılımları ile serum MBL düzeyi arasındaki ilişki incelendiğinde de aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı (sırasıyla; $p=0.708$, $p=0.939$)(Şekil 4.3, Şekil 4.4)

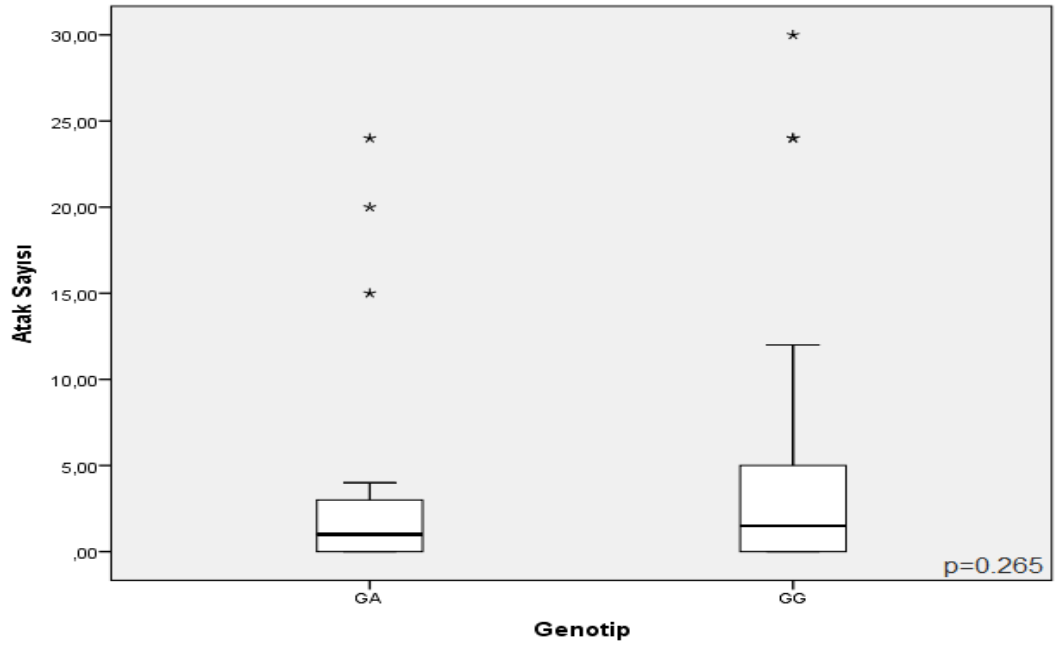


Şekil 4.3.KOAH hastalarında serum MBL düzeyleri ile MBL2 genotipleri arasındaki ilişki.



Şekil 4.4. Kontrol grubunda serum MBL düzeyleri ile MBL2 genotipleri arasındaki ilişki.

KOAH hastalarında atak sayısı ile genotip dağılımları arasındaki ilişki incelendiğinde bir ilişki bulunmadı ($p=0.265$).



Şekil 4.5. Atak sayısı ile genotip dağılımları arasındaki ilişki.

5. TARTIŞMA

Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH) ilerleyici ve kalıcı hava akımı kısıtlanması ile karakterize, yaygın, önlenbilir ve tedavi edilebilir bir hastalık olarak tanımlanmıştır (40). Hava akımı kısıtlanması genellikle progresiftir ve yabancı partikül ve gazlara karşı akciğerin anormal cevabı ile ilişkilidir. KOAH'da tedavi yaklaşımları devamlı gelişse de KOAH hala dünyada önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Enfektif alevlenmeler morbidite ve mortalitenin artmasına neden olmakta, akciğer fonksiyonlarındaki azalmayı ve KOAH'ın progresyonunu hızlandırmaktadır.

MBL, doğal immün sistemin bir parçası olan ve kollektin protein ailesinin bir üyesidir. İnsanda MBL geni MBL2 olarak adlandırılmaktadır ve 10.kromozomun q11.2-q21 bölgesinde lokalizedir. MBL2 geninin birinci ekzonunda kodon 52,54 ve 57'de meydana gelen mutasyonlar MBL'nin yapısını bozmakta ve serum MBL düzeylerinin düşmesine neden olmaktadır.

KOAH gelişiminde genetik varyasyonlar potansiyel risk faktörleridir ve gen polimorfizmleri KOAH'a duyarlı bireyler açısından araştırma konusu olmuştur. Önceki çalışmalar KOAH ile MBL2 gen polimorfizmi arasında ilişki olduğuna işaret etmişlerdir.

KOAH'lı hastalar ile MBL gen polimorfizmi arasındaki ilişkinin incelenmesini, serum MBL düzeylerinin saptanmasını ve KOAH alevlenme sıklığı ile serum MBL düzeyleri arasındaki ilişkinin incelenmesini amaçladığımız bu çalışmaya 80 KOAH hastası ve 60 sağlıklı kontrol alınmıştır. Bu çalışmada MBL2 geninin 54 kodonu incelenmiştir. Her iki grup arasında genotip dağılımları açısından gruplar arasında anlamlı fark saptadık ($p=0.026$). Yine her iki grupta ortalama serum MBL düzeyleri arasında anlamlı farklılık ortaya kondu ($p=0.021$)(Tablo 4.3). Ancak atak sayıları ile serum MBL düzeyleri arasında ve genotip dağılımları arasında anlamlı ilişki saptamadık.

Yang ve arkadaşlarının Kafkas toplumunda 200 KOAH hastası ve 104 sağlıklı kontrol ile yaptığı çalışmada MBL gen polimorfizmleri ile KOAH hastalarında serum MBL düzeyleri ve enfektif alevlenmeler ile ilişkisi ve KOAH

gelişimine katkısı araştırılmıştır. KOAH hastalarında MBL2 genotipi ve serum MBL düzeyleri arasında anlamlı ilişki saptanmıştır. Bizim çalışmamızda MBL2 genotipi ile serum MBL düzeyleri arasında bir ilişki bulunmamıştır. Ayrıca bu çalışmada bir ya da daha fazla atak geçirenlerde genotip varyanlarından biri bulunmuştur. Buna karşın KOAH olasılığı ile MBL2 genotipleri arasında ilişki bulunmamıştır. Bu çalışmada da bizim çalışmamızda olduğu gibi AA genotipine sahip bireyler az olduğundan istatistiksel analiz için GA ve AA genotipleri bir araya getirilmiştir. Bizim çalışmamızda AA genotipine sahip 1 tane KOAH hastası olduğu için istatistiksel analizler sürecinde bu birim çalışmadan dışlanmıştır (83).

Tomas ve arkadaşları 2009 yılında yayımladıkları bir çalışmada MBL eksikliğinin KOAH hastalarında daha fazla olup olmadığını ve MBL eksikliğinin KOAH şiddeti ile ilişkisi olup olmadığını araştırmışlardır. Çalışmaya toplamda 415 KOAH hastası ve 231 KOAH olmayan bireyler katılmıştır. Çalışmaya katılanların serum MBL düzeyleri ELİSA yöntemi ile ölçülmüştür. Serum MBL düzeyleri 100ng/ml ve 500 ng/ml'den düşük olmak üzere gruplandırılmıştır. KOAH hastaları ve KOAH olmayan bireylerde sayı açısından her iki grupta da anlamlı fark bulunmamıştır. Ayrıca düşük MBL düzeylerinin veya MBL eksikliğine sahip olunmanın KOAH patogenezinde veya hastalığın ilerleme hızında önemli bir faktör olmadığı göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda KOAH grubunun ortalama serum MBL düzeyi 506.39 ± 286.62 , kontrol grubunun ortalama serum MBL düzeyi 657.53 ± 430.62 idi. Her iki grupta ortalama serum MBL düzeyleri açısından anlamlı farklılık saptandı ($p=0.021$)(Tablo 4.4). Tomas ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada KOAH hastaları ve KOAH olmayan bireyler arasında yaş ve sigara içme yükü açısından anlamlı farklılıklar vardı. Ancak bizim çalışmamızda KOAH hastaları ve sağlıklı bireyler arasında yaş ve cinsiyet açısından homojen bir dağılım vardı. Her ne kadar KOAH grubunun ortalama serum MBL düzeyi 506.39 ± 286.62 , kontrol grubunun ortalama serum MBL düzeyi 657.53 ± 430.62 ve $p=0.021$ olsada çalışmamızda serum MBL düzeyinin KOAH hastalığını belirlemede önemli bir belirteç olmadığı düşünülmüştür. Eğri altında kalan alanın 0.522 olması ve istatistiksel önemlilik düzeyinin 0.688 olmasından dolayı serum MBL düzeyinin güçlü bir belirteç olarak kullanılmasını önermemektediriz. Bunun başka çalışmalarla teyidi gerektiğini düşünmekteyiz (85).

Lin ve arkadaşlarının 215 KOAH hastası ve 137 sağlıklı birey arasında yapılan çalışmada KOAH hastalarında MBL2 gen polimorfizminin ve MBL eksikliğinin tekrarlayan enfektif ataklar üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Çalışmada serum MBL düzeyleri ile MBL2 genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı. Ancak KOAH oluşumunda MBL2 gen polimorfizmi risk faktörü değildi. Ancak MBL eksikliği ile ilişki tüm genotipler KOAH hastalarında sık enfektif alevlenmeler ile ilişkiliydi. Bizim çalışmamızda genotipler ile MBL eksikliği ile bir ilişki bulunamamıştır. Ancak bu çalışmada MBL2 geninin promotor bölgesi ile ekzon 1 bölgesi kombinasyonu incelenmiştir. Bizim çalışmamızda sadece MBL2 geninin ekzon 1 bölgesindeki kodon 54 bölgesi çalışılmıştır. Bu nedenle genotiplerin MBL eksikliği ile olan ilişkisinin hangisinin etkisinden kaynaklandığı bilinmemektedir (86).

Ulutaş ve arkadaşları bir grup Türk KOAH hastasında, sigara içen ve sağlıklı kontrollerde serum MBL düzeylerini ve MBL genotiplerini araştırmışlar, ayrıca serum MBL düzeyleri ile pulmoner fonksiyon testlerinin olası ilişkilerini incelemişlerdir. Çalışmaya 40 KOAH hastası ve 40 sağlıklı kontrol dahil edilmiştir. Katılımcılarda MBL2 geninin ekzon 1'indeki tekli mutasyonlar incelenmiştir ve GA varyant, TT varyant (kodon 52) ve AA varyant bulunmuştur. Bizim çalışmamızda sadece ekzon 1'deki 54 kodonu incelenmiştir ve GA, AA ve GG varyant bulunmuştur. KOAH hastalarında AA varyantı sadece 1 kişide bulunduğu için istatistiksel analizlerden çıkarılmıştır. Ulutaş ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da AA varyantı KOAH hastalarında sadece 1 kişide gözlemlendiğinden bu çalışmada da istatistiksel incelemelerden çıkarılmıştır. Ancak Ulutaş ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada normal tip olan GG genotipi bulunmamıştır. KOAH hastalarının çoğu GA genotipine sahipti. Oysaki bizim çalışmamızda KOAH hastalarının %60'ı GG genotipine sahipti. Hastaların %38.75'inde GA genotipi vardı. Bu bizim çalışmamızın örneklem büyüklüğü açısından Ulutaş ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadan daha büyük olmasıyla ilgili olabilir. Ulutaş ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada genotip dağılımları açısından anlamlı fark saptanmadı. Ayrıca serum MBL düzeyleri ile gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Bizim çalışmamızda da genotip dağılımları ile serum MBL düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Ancak KOAH hastalarında kontrol grubuna göre

ortalama serum düzeyleri daha düşüktü. Ancak KOAH hastalarında MBL eksikliğini bulamadık (87).

Mandal ve arkadaşları 277 KOAH hastasında MBL2 gen polimorfizmlerini ve serum MBL düzeylerini incelemişlerdir. Çalışma popülasyonunun ortalama serum MBL düzeyleri 612 ng/ml bulunmuştur. Bizim çalışmamızda 463.84 ng/ml, yani daha düşük bulunmuştur. Az ve sık atak geçirenler arasında serum MBL düzeyleri açısından fark bulunmamıştır. Bizim çalışmamızda da az ve sık atak geçirenler arasında serum MBL düzeyleri açısından anlamlı fark yoktu. Mandal ve arkadaşları MBL2 geninin promoter ve ekzon 1 bölgesindeki mutasyonları incelemiştir. Ekzon 1 bölgesindeki MBL genotiplerinin az ve sık atak geçirenler arasında anlamlı fark bulunmamışlardır. Bizim çalışmamızda da az ve sık atak geçirenlerde genotipler açısından anlamlı fark yoktu (88).

Sharma ve arkadaşları 2014 yılında "Molecular Cytogenetics"de Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığında MBL2 gen polimorfizmi ve lipid peroksidasyonunun değerlendirilmesi adlı bir poster sunumu yapmışlardır. 129 KOAH hastası ve 90 eşleştirilmiş kontrol grubunun alındığı bu çalışmada KOAH şiddeti ve duyarlılığının MBL2 gen polimorfizmi ile ilişkisi incelenmiştir. Sonuçta KOAH hastalarında kodon 54 genotip sıklığı kontrol grubundan anlamlı yüksek çıkmıştır. Vakalarda GG genotipi daha yaygın bulunmuştur. Ayrıca hastalarda serum MBL düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da KOAH grubunda GG genotipi daha sıklı. Ancak Sharma ve arkadaşlarından farklı olarak serum MBL düzeyleri KOAH grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha düşük bulunmuştur (89).

Birbian ve arkadaşları Hindistan'da toplamda 992 kişinin yer aldığı vaka-kontrol çalışması yapmışlardır. Bu çalışmada astım patogenezinde MBL2 kodon-54'deki GA polimorfizmi araştırılmıştır. 412 astım, 582 sağlıklı kontrolün yer aldığı bu çalışmada normal G alelinin astım ile ilişkili olduğu, ancak MBL2 kodon 54 GA polimorfizminin astım fenotipleri ile ilişkili olmadığı gösterilmiştir (82). KOAH ve astım birlikteliğini düşünecek olursak bizim çalışmamızda da KOAH hastalarında G aleli daha sık bulunmaktaydı ve GG genotipi ağırlıklı olarak vardı.

Dahl ve arkadaşlarının KOAH'da erken hastalık ve prognoz belirteçlerinin araştırıldığı derlemede MBL eksikliği olan grupta KOAH veya astım açısından artmış risk bulunmamıştır. Yani Danimarka genel nüfusunda genetik olarak MBL eksikliği KOAH açısından önemli risk faktörü bulunmamıştır (90).

KOAH ve MBL2 gen mutasyonları arasında ilişki çok yeni bir konudur. Bu konuda henüz yeterli bir veri bulunmamaktadır. Yapılan çalışmalar daha çok MBL2 promoter bölgeleri ve MBL2 kodon 52,54, 57 bölgelerini ya da her iki bölgeleri içermekteydi. Bizim çalışmamızda sadece kodon 54 bölgesi incelenmiştir. Bu nedenle MBL eksikliği ile KOAH ilişkisi bulunmamış olabilir. Ayrıca KOAH hastalarının çoğunluğu az atak geçiren gruptaydı. Sık atak geçirenlerin daha sık olduğu bir örnekte KOAH'ın MBL eksikliği ile ilişkisi ortaya konulabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

KOAH dünya çapında en önemli morbidite ve mortalite nedenlerinden biridir ve önemli boyutlarda ve giderek artan bir ekonomik ve sosyal yüke neden olmaktadır. Küresel Hastalık Yüğü Çalışması'nda 1990'da altıncı ölüm nedeni olan KOAH'ın , 2020 yılında dünya çapında başı çeken üçüncü ölüm nedeni olacağı tahmin edilmektedir; daha yeni bir tahminde 2030 yılında KOAH'ın dördüncü ölüm nedeni olacağı hesaplanmıştır.

Sigara içme alışkanlığı ve iç ortam hava kirliliği gibi risk faktörlerinin oldukça yaygın olduğu Türkiye'de, KOAH'ın yüküne yönelik yeterli çalışma bulunmamaktadır. Son on yılda yapılan iki çalışma, ülkemizde KOAH'ın yüküne yönelik önemli verilerin elde edilmesini sağlamıştır. Bunlardan ilki Sağlık Bakanlığınca yürütülen Ulusal Hastalık Yüğü Çalışması, ikincisi ise Adana ilinde yapılan BOLD-Türkiye Çalışmasıdır. Sağlık bakanlığınca Küresel Hastalık Yüğü(Global Burden of Study) yöntemi kullanarak Türkiye'de ölüm nedenlerini tahmin etmeyi hedefleyen çalışmada, en sık görülen ölüm nedenleri arasında KOAH'ın üçüncü sırada olduğunu bildirmiştir.

Kronik obstrüktif akciğer hastalığında risk faktörlerinin belirlenmesi hem hastalığın farklı toplumlardaki prevalansının geleceğe dönük olarak azaltılmasında, hem de var olan hastalığın ilerlemesinin yavaşlatılmasında önemlidir. Sigara, KOAH gelişiminde önemli bir risk faktörü olmasına rağmen sigara içenlerin sadece bir kısmında KOAH gelişmektedir. Diğer taraftan inhalasyon yolu ile alınan ve hava yollarına zarar verme olasılığı yüksek olan gaz, toz ve partiküllere ne oranda maruz kalınırsa kalınsın risk altındaki her bireyde KOAH gelişmediği de bir gerçektir. Bu durum KOAH gelişiminde genetik faktörlerin de katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle bu çalışmada KOAH ile MBL gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştırmayı planladık. Bu amaçla MBL2 geni 54B alel bölgesinin polimorfizm durumunu değerlendirdik.

KOAH hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubu arasında MBL2 gen polimorfizmine ait 54B gen bölgesinin genotip dağılımı istatistiksel açıdan anlamlı farklı bulundu ($p=0.026$).

Yine KOAH hasta grubu ile sağlıklı kontrol grubu arasında ortalama serum MBL d¼zeyleri arasında anlamlı fark bulundu($p=0.021$).

Çalışmamızda serum MBL d¼zeyleri KOAH hastalarında sağlıklı bireylere göre daha düşük bulunsa da MBL eksikliğini belirleyecek bir cut-off değer ortaya konmamıştır. Bu nedenle serum MBL d¼zeyinin KOAH hastalığının gelişimini belirlemede önemli bir belirteç olmadığı düşün¼lm¼ştür.

KOAH hastaları ile MBL2 gen polimorfizmi arasındaki ilişki incelendiğinde KOAH hastalarında GG genotipi daha sık saptanmıştır. Ayrıca KOAH atak sıklığı ile de MBL2 gen polimorfizmleri ve serum MBL d¼zeyleri arasında bir ilişki bulunmamıştır. KOAH hastalığının MBL2 gen polimorfizmleri ve serum MBL d¼zeyleri arasındaki ilişkinin incelenmesi açısından çalışmamızın başka çalışmalarla da desteklenmesi gerekmektedir.

KOAH ve MBL2 gen polimorfizmleri ile ilgili kısıtlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Ayrıca literat¼r bilgilerine bakıldığında çalışmamız, Türklerde KOAH ve MBL2 polimorfizmini inceleyen ikinci çalışmadır. Bu nedenle yapmış olduğumuz çalışmanın KOAH gelişiminde MBL2 gen polimorfizminin etkisinin belirlenmesine ve literat¼re önemli katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease: Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease (Güncelleme 2016).
2. Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. Plos med. 2006;3(11):e442.
3. Türk Toraks Derneği KOAH Tanı ve Tedavi Uzlaşı Raporu 2010; 6 ;8;13.
4. Kocabaş A. KOAH: Epidemiyoloji ve Doğal Gelişim. Eds: Umut, S, Erdinç, E: Kronik Obstrütif Akciğer Hastalığı, Toraks Kitapları. 2000(2):8-26.
5. Republic of Turkey Ministry of Health Refik Saydam Hygiene Center Presidency School of Public Health. Turkey National Burden of Disease and Cost Effectiveness Study: National Household Survey 2003. Basic Findings. Ankara, Turkey 2006.
6. Republic of Turkey Ministry of Health Refik Saydam Hygiene Center Presidency School of Public Health. Turkey Burden of Disease Study 2004. Ankara, Turkey, 2006.11.
7. Løkke A, Lange P, Scharling H, Fabricius P, Vestbo J. Developing COPD: a 25 year follow up study of the general population. Thorax. 2006;61(11):935-9.
8. Burrows B, Knudson RJ, Cline MG, Lebowitz MD. Quantitative Relationships between Cigarette Smoking and Ventilatory Function 1, 2. American Review of Respiratory Disease. 1977;115(2):195-205.
9. Fletcher C, Peto R. The natural history of chronic airflow obstruction. Br Med J. 1977;1(6077):1645-8.
10. Laurell C-B, Eriksson S. The electrophoretic α_1 -globulin pattern of serum in α_1 -antitrypsin deficiency. Scand. J. Clin. & Lab. Investigation. 1963;15(2):132-40.
11. Molino NA. Genetics of COPD. Chest 2004; 125: 1929-40.
12. Smolonska J, Wijmenga C, Postma DS, Boezen HM. Meta-analyses on suspected chronic obstructive pulmonary disease genes: a summary of 20 years' research. Am J Respir Crit Care Med 2009;180(7):618-31.

13. Molfino NA. Current thinking on genetics of chronic obstructive pulmonary disease. *Current opinion in pulmonary medicine*. 2007;13(2):107-13.
14. Lim SS, Vos T, Flaxman AD, Danaei G, Shibuya K, Adair-Rohani H, et al. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet*. 2013;380(9859):2224-60.
15. Paczek L, Nowak M. The paradox of the 21st century—is there really an epidemic of most common killers? *International journal of general medicine*. 2011;4:799.
16. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, Lim S, Shibuya K, Aboyans V, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet*. 2013;380(9859):2095-128.
17. Ni H, Xu J. COPD-related Mortality by Sex and Race Among Adults Aged 25 and Over: United States, 2000-2014. *NCHS data brief*. 2016(256):1.
18. Wang H, Dawyer-Lindgren L, Lofgren KT, et al. Age-specific and sex specific mortality in 187 countries 1970-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet* 2012;380: 2071-2094.
19. Murray CJL, Vos T, Lozano R, et al. Disability-adjusted life years (DALYs) for 219 diseases and injuries in 21 regions 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet* 2012; 380: 2197-2223.
20. Türk Toraks Derneği, Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı Tanı ve Tedavi Uzlaş Raporu. *Türk Toraks Dergisi*. İstanbul: Aves yayıncılık, 2010;11:13-15.
21. Buist AS, McBurnie MA, Vollmer WM, Gillespie S, Burney P, Mannino DM, et al. International variation in the prevalence of COPD (the BOLD Study): a population-based prevalence study. *The Lancet*. 2007;370(9589):741-50.
22. Menezes AMB, Perez-Padilla R, Jardim JB, Muiño A, Lopez MV, Valdivia G, et al. Chronic obstructive pulmonary disease in five Latin American cities (the PLATINO study): a prevalence study. *The Lancet*. 2005;366(9500):1875-81.

23. Kocabas A, Hancioglu A, Turkyilmaz S, Unalan T, Umut S, Cakir B, et al. Prevalence of COPD in Adana, Turkey (BOLD-Turkey Study). *Proceedings of the American Thoracic Society*. 2006;3(Suppl A):A543.
24. Ünal B, Ergör G, Horasan G. Türkiye Kronik Hastalıklar ve Risk Faktörleri Sıklığı Çalışması. Ankara: Sağlık Bakanlığı. 2013.
25. Hooper R, Burney P, Vollmer WM, McBurnie MA, Gislason T, Tan WC, et al. Risk factors for COPD spirometrically defined from the lower limit of normal in the BOLD project. *Eur Respir J*. 2012;39(6):1343-53.
26. Ulubay G, Yıldız Ö. Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığında Risk Faktörleri. *Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı*. 2013;40-41.
27. Lawlor DA, Ebrahim S, Smith GD. Association of birth weight with adult lung function: findings from the British Women's Heart and Health Study and a meta-analysis. *Thorax*. 2005;60(10):851-8.
28. Mannino DM, Homa DM, Akinbami LJ, Ford ES, Redd SC. Chronic obstructive pulmonary disease surveillance---United States, 1971--2000. *Respir Care*. 2002;76(10).
29. Soriano JB, Rodríguez-Roisin R. Chronic obstructive pulmonary disease overview: epidemiology, risk factors, and clinical presentation. *Proceedings of the American Thoracic Society*. 2011;8(4):363-7.
30. Lindberg A, Bjerg-Bäcklund A, Rönmark E, Larsson L-G, Lundbäck B. Prevalence and underdiagnosis of COPD by disease severity and the attributable fraction of smoking: report from the Obstructive Lung Disease in Northern Sweden Studies. *Respir Med* 2006;100(2):264-72.
31. Salvi SS, Barnes PJ. Chronic obstructive pulmonary disease in non-smokers. *The Lancet*. 2009;374(9691):733-43.
32. Lopez AD, Mathers CD, Ezatti M. Global burden of disease and risk factors. Washington, DC: World Bank, 2006. .
33. Grigg J. Particulate matter exposure in children: relevance to chronic obstructive pulmonary disease. *Proceedings of the American Thoracic Society*. 2009;6(7):564-9.

34. Prescott E, Lange P, Vestbo J, Group CCHS. Socioeconomic status, lung function and admission to hospital for COPD: results from the Copenhagen City Heart Study. *Eur Respir J* 1999;13(5):1109-14.
35. de Marco R, Accordini S, Marcon A, Cerveri I, Antó JM, Gislason T, et al. Risk factors for chronic obstructive pulmonary disease in a European cohort of young adults. *Am J Respir Crit Care Med* 2011;183(7):891-7.
36. Silva GE, Sherrill DL, Guerra S, Barbee RA. Asthma as a risk factor for COPD in a longitudinal study. *Chest* 2004;126(1):59-65.
37. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: güncelleme 2014.
38. Salvi S. Tobacco smoking and environmental risk factors for chronic obstructive pulmonary disease. *Clinics in chest medicine*. 2014;35(1):17-27.
39. Barker D, Godfrey K, Fall C, Osmond C, Winter P, Shaheen S. Relation of birth weight and childhood respiratory infection to adult lung function and death from chronic obstructive airways disease. *BMJ* 1991;303(6804):671-5.
40. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease: Global Strategy for the Diagnosis, Management and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease (revised 2011).
41. Van Eeden SF, Sin DD. Chronic obstructive pulmonary disease: a chronic systemic inflammatory disease. *Respir* 2007;75(2):224-38.
42. Braman SS, Chronic obstructive pulmonary disease, ACCP Pulmonary Medicine Board Review. 26th edition Northbrook, IL: American College of Chest Physicians, 77, 2012.
43. Yin P, Jiang C, Cheng K, Lam T, Lam K, Miller M, et al. Passive smoking exposure and risk of COPD among adults in China: the Guangzhou Biobank Cohort Study. *The Lancet*. 2007;370(9589):751-7.
44. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global strategy for the diagnosis, management and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI/WHO Workshop Report; 2009.

45. Lee W, Thomas PS. Oxidative stress in COPD and its measurement through exhaled breath condensate. *CTS* 2009;2(2):150-5.
46. Bazeghi N, Gerds TA, Budtz-Jørgensen E, Hove J, Vestbo J. Exhaled nitric oxide measure using multiple flows in clinically relevant subgroups of COPD. *Respir Med* 2011;105(9):1338-44.
47. Fens N, de Nijs SB, Peters S, Dekker T, Knobel HH, Vink TJ, et al. Exhaled air molecular profiling in relation to inflammatory subtype and activity in COPD. *Eur Respir J* 2011;38(6):1301-9.
48. Yıldırım N. Kronik obstrüktif akciğer hastalığında kronik solunum yetersizliği döneminin fizyopatolojisi (Sistemik hastalık olarak KOAH). *Solunum*; 1: 56-65, 2002.
49. Kesten S, Chapman KR. Physician perceptions and management of COPD. *Chest*. 1993;104(1):254-8.
50. Loveridge B, West P, Kryger M, Anthonisen N. Alteration in Breathing Pattern with Progression of Chronic Obstructive Pulmonary Disease 1, 2. *Am Rev Respir Dis* 1986;134(5):930-4.
51. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, et al. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J* 2005;26(2):319-38.
52. Pellegrino R, Viegi G, Brusasco V, Crapo R, Burgos F, Casaburi Rea, et al. Interpretative strategies for lung function tests. *Eur Respir J* 2005;26(5):948-68.
53. Bestall J, Paul E, Garrod R, Garnham R, Jones P, Wedzicha J. Usefulness of the Medical Research Council (MRC) dyspnoea scale as a measure of disability in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 1999;54(7):581-6.
54. Nishimura K, Izumi T, Tsukino M, Oga T. Dyspnea is a better predictor of 5-year survival than airway obstruction in patients with COPD. *Chest J* 2002;121(5):1434-40.
55. Jones PW, Quirk FH, Baveystock CM, Littlejohns P. A self-complete measure of health status for chronic airflow limitation: the St. George's Respiratory Questionnaire. *Am Rev Respir Dis* 1992;145(6):1321-7.
56. Guyatt GH, Berman LB, Townsend M, Pugsley SO, Chambers LW. A measure of quality of life for clinical trials in chronic lung disease. *Thorax* 1987;42(10):773-8.

57. Jones P, Harding G, Berry P, Wiklund I, Chen W, Leidy NK. Development and first validation of the COPD Assessment Test. *Eur Respir J* 2009;34(3):648-54.
58. Jones PW. COPD assessment test --rationale, development, validation and performance. *J COPD* 2013;10:269-71.
59. http://www.catestonline.org/english/index_Turkey.htm.
60. Rodriguez-Roisin R. Toward a consensus definition for COPD exacerbations. *Chest J* 2000;117(5_suppl_2):398S-401S.
61. Burge S, Wedzicha J. COPD exacerbations: definitions and classifications. *Eur Respir J* 2003;21(41 suppl):46s-53s.
62. Celli BR, Barnes P. Exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 2007;29(6):1224-38.
63. Sapey E, Stockley R. COPD exacerbations· 2: Aetiology. *Thorax* 2006;61(3):250-8.
64. Türk Toraks Derneği, Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı Tanı ve Tedavi Uzlaş Raporu. *Türk Toraks Derg* 2014; 15 (Suppl 2): S34-71.
65. Fujita T. Evolution of the lectin–complement pathway and its role in innate immunity. *Nature Rev Immun* 2002;2(5):346-53.
66. Turner MW. The role of mannose-binding lectin in health and disease. *Molecular immunology*. 2003;40(7):423-9.
67. Presanis J, Kojima M, Sim R. Biochemistry and genetics of mannan-binding lectin (MBL). *Biochemical Society Transactions*. 2003;31(4):748-52.
68. Kilpatrick D. Mannan-binding lectin and its role in innate immunity. *Transfusion Medicine*. 2002;12(6):335-52.
69. Matsushita M, Fujita T. Activation of the classical complement pathway by mannose-binding protein in association with a novel C1s-like serine protease. *J Exp Med* 1992;176(6):1497-502.
70. Dommett R, Klein N, Turner M. Mannose-binding lectin in innate immunity: past, present and future. *Tissue antigens*. 2006;68(3):193-209.
71. Fujita T, Endo Y, Nonaka M. Primitive complement system—recognition and activation. *Molecular immunology*. 2004;41(2):103-11.

72. Guo N, Mogue T, Weremowicz S, Morton CC, Sastry KN. The human ortholog of rhesus mannose-binding protein-A gene is an expressed pseudogene that localizes to chromosome 10. *Mammalian genome*. 1998;9(3):246-9.
73. Madsen HO, Garred P, Kurtzhals JA, Lamm LU, Ryder LP, Thiel S, et al. A new frequent allele is the missing link in the structural polymorphism of the human mannan-binding protein. *Immunogenetics*. 1994;40(1):37-44.
74. Sumiya M, Tabona P, Arai T, Summerfield J, Super M, Levinsky R, et al. Molecular basis of opsonic defect in immunodeficient children. *The Lancet*. 1991;337(8757):1569-70.
75. Lipscombe R, Sumiya M, Hill A, Lau Y, Levinsky R, Summerfield J, et al. High frequencies in African and non-African populations of independent mutations in the mannose binding protein gene. *Human molecular genetics*. 1992;1(9):709-15.
76. Lipscombe R, Sumiya M, Summerfield J, Turner M. Distinct physicochemical characteristics of human mannose binding protein expressed by individuals of differing genotype. *Immunology*. 1995;85(4):660.
77. Thiel S, Frederiksen PD, Jensenius JC. Clinical manifestations of mannan-binding lectin deficiency. *Molecular immunology*. 2006;43(1):86-96.
78. Güneşçar R, Taşdemir D, Yıldırım A, Eryılmaz N. Mannoz bağlayıcı lektinin yapısı, fonksiyonu, moleküler genetiği, hastalık ilişkisi ve terapötik potansiyeli. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2011;31(5):1250-61.
79. Chalmers JD, Fleming GB, Hill AT, Kilpatrick DC. Impact of mannose-binding lectin insufficiency on the course of cystic fibrosis: a review and meta-analysis. *Glycobiology*. 2011;21(3):271-82.
80. Garred P, Strøm JJ, Quist L, Taaning E, Madsen HO. Association of mannose-binding lectin polymorphisms with sepsis and fatal outcome, in patients with systemic inflammatory response syndrome. *J Infect Dis* 2003;188(9):1394-403.
81. Garcia-Laorden MI, Sole-Violan J, de Castro FR, Aspa J, Briones ML, Garcia-Saavedra A, et al. Mannose-binding lectin and mannose-binding lectin-associated serine protease 2 in susceptibility, severity, and outcome of pneumonia in adults. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2008;122(2):368-74. e2.

82. Birbian N, Singh J, Jindal SK, Joshi A, Batra N, Singla N. Association of the wild-type A/A genotype of MBL2 codon 54 with asthma in a North Indian population. *Disease markers*. 2012;32(5):301-8.
83. Yang I, Seeney S, Wolter J, Anders E, McCormack J, Tunnicliffe A, et al. Mannose-binding lectin gene polymorphism predicts hospital admissions for COPD infections. *Genes and immunity*. 2003;4(4):269-74.
84. Brusasco V. et al, SERIES "ATS/ERS TASK FORCE: STANDARDISATION OF LUNG FUNCTION TESTING": Interpretative strategies for lung function tests. *Eur Respir J* 2005; 26: 948–968.
85. Eagan TM, Aukrust P, Bakke PS, Damås JK, Skorge TD, Hardie JA, et al. Systemic mannose-binding lectin is not associated with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med* 2010;104(2):283-90.
86. Lin C-L, Siu L-K, Lin J-C, Liu C-Y, Chian C-F, Lee C-N, et al. Mannose-binding lectin gene polymorphism contributes to recurrence of infective exacerbation in patients with COPD. *Chest* 2011;139(1):43-51.
87. Ulutaş Gürol Şahin, Taneli Fatma, Alpaydın Aylin Özgen, et al. KOAH hastalarında mannoz bağlayan lektin (MBL) gen polimorfizmi ve serum MBL derişimi arasındaki ilişki. *Türk Biyokimya Dergisi*.2012;37(1):87-93.
88. Mandal J, Malla B, Steffensen R, Costa L, Egli A, Trendelenburg M, et al. Mannose-binding lectin protein and its association to clinical outcomes in COPD: a longitudinal study. *Respiratory Research*. 2015;16(1):1.
89. Sharma A, Gandhi G, Singh J, Singh S, Kaur M. Assessment of MBL2 gene polymorphism and lipid peroxidation in Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD). *Molecular Cytogenetics*. 2014;7(1):1.
90. Dahl M, Nordestgaard BG. Markers of early disease and prognosis in COPD. *International Journal of COPD* 2009;4:157.

