

T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

SARKOİDOZLU HASTALARDA ANJİYOTENSİN CONVERTİNG  
ENZİM (ACE) GENİ POLİMORFİZMİ SIKLIĞI

Dr. Gülden SARI

Ggs Hastalıkları Anabilim Dalı  
TIPTA UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR  
2012



T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ

SARKOİDOZLU HASTALARDA ANJİYOTENSİN CONVERTİNG  
ENZİM (ACE) GENİ İ/D POLİMORFİZMİ

Dr. Gülden SARI

Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı  
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŐMANI  
Prof. Dr. Emel KURT

ESKİŞEHİR

2012

## TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr Gülden SARI'ya ait 'Sarkoidozlu Hastalarda Anjiyotensin Converting Enzim (ACE) Geni Polimorfizmi Sıklığı' adlı çalışma jürimiz tarafından Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tarih:22/05/2012

Jüri Başkanı Prof. Dr. Emel KURT  
Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı

Üye Prof. Dr. M. Sinan ERGİNEL  
Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı

Üye Doç. Dr. Hüseyin YILDIRIM  
Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte Kurulu'nun.....Tarih ve .....Sayılı Kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Bekir YAŞAR  
Dekan

## TEŞEKKÜR

Tez danışman hocam Prof. Dr. Emel KURT'a, uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösteren hocalarım Prof. Dr. Muzaffer METİNTAŞ'a, Prof. Dr. M. Sinan ERGİNEL'e, Prof. Dr. Füsun ALATAŞ'a, Prof. Dr. İrfan UÇGUN'a, Doç. Dr. Hüseyin YILDIRIM'a, Yrd. Doç. Dr. Güntülü AK'a ve laboratuvar incelemelerinde bana yardımcı olan Prof. Dr. İrfan DEĞİRMENCI'ye teşekkür ederim.

## ÖZET

**Sarı, G. Sarkoidozlu hastalarda ACE geni I/D polimorfizmi sıklığı. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2012.** Bu çalışmanın amacı ; Türk sarkoidozlu hastalarda ACE gen polimorfizmi sıklığını belirlemek ve hastalık ile ACE gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi tespit etmektir. Çalışmada 70 sarkoidoz tanılı hasta ile 85 sağlıklı gönüllüden elde edilen genomik DNA' lar kullanıldı. Genomik DNA'lar venöz kandan standart yöntemler kullanılarak elde edildi. Genomik DNA'lar ACE geninin 16. intronunda 287 bç'lik DNA fragmentinin varlığı veya yokluğuna göre belirlenen I/D polimorfizmi genotiplerini saptamak amacı ile, PCR yöntemi kullanılarak ACE ve ACEX primerleri ile amplifiye edildi. PCR ürünleri elektroforeze tabi tutularak CCD kamera ile değerlendirildi. Verilerin istatistiksel analizi ki-kare testi kullanılarak yapıldı. Sağlıklı kontrol grubu bireylerinde II genotip oranı %21.2, ID genotip oranı %63.5, DD genotip oranı %15.3 olarak belirlendi. Sarkoidozlu bireylerde genotip dağılımı ise; II genotip oranı %22.9, ID genotip oranı %50, DD genotip oranı %27.1 olarak saptandı. Sarkoidozlu bireylerde (0.48/0.52) ve sağlıklı kontrol grubu bireylerinde (0.53/0.47) ACE geni I ve D alleli sıklığında anlamlı farklılık saptanmadı. Bizim sonuçlarımız, Türk sarkoidozlu hastalarda, ACE gen polimorfizmi ile sarkoidoz hastalığı arasında bir ilişki olmadığını göstermiştir.

Anahtar Kelimeler: Sarkoidoz, ACE geni, ACE gen polimorfizmi, PCR

## ABSTRACT

**Sarı, G. Angiotensin converting enzyme polymorphism frequency in sarcoidosis. Chest Department, Eskişehir Osmangazi University Faculty of Medicine, Eskişehir 2012.** The aim of this study is to detect the frequency of the angiotensin-converting enzyme (ACE) gene polymorphism in Turkish sarcoidosis patients, and to examine whether there is an association between the disease and ACE gene polymorphism. In our study, the genomic DNA of 70 sarcoidosis patients and 85 healthy subjects was analyzed. Genomic DNA was isolated from peripheral blood by using standard methods. The intron 16 of the ACE gene was amplified by the polymerase chain reaction (PCR) method using primers ACE and ACEX to examine the presence and absence of a 287-base pair (bp) DNA fragment that showed I/D polymorphism genotypes. PCR products were separated by agarose gel electrophoresis and were visualized by a charge-coupled device (CCD) camera. The results were evaluated statistically using the chi-square test. Among the healthy control group (n=85), the distribution of II, ID and DD genotypes was 21.2 %, 63.5 % and 15.3 % respectively. For the sarcoidosis group; the distribution of II, ID and DD genotypes was 22.9 %, 50 % and 27.1 % respectively. The frequency of the I and D alleles of the ACE gene was not significantly different between sarcoidosis patients (0.48/0.52) and healthy controls (0.53/ 0.47). Our results suggest that there is no association between ACE gene polymorphism and sarcoidosis, in Turkish population.

**Key Words:** Sarcoidosis, ACE gene, ACE gene polymorphism, PCR

**İÇİNDEKİLER**

	Sayfa
TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1.Sarkoidoz	3
2.1.1.Tanımı	3
2.1.2.Epidemiyoloji	3
2.1.3.Etyoloji ve Patogenez	4
2.1.4.Patoloji	10
2.1.5.Klinik	10
2.1.6.Tanı	16
2.1.7.Tedavi	17
2.2.Anjiyotensin Converting Enzim	21
2.2.1.Anjiyotensin	21
2.2.2.Renin	22
2.2.3.Anjiyotensin II Metabolizması	23
2.2.4.Anjiyotensinin Etkileri	24
2.2.5.Anjiyotensin Converting Enzim Yapısı ve Fonksiyonları	24
2.2.6.Anjiyotensin Converting Enzim Geni	26
2.2.7.Anjiyotensin Converting Enzim Gen Polimorfizmi	27
3.GEREÇ VE YÖNTEM	28
4.BULGULAR	37
5.TARTIŞMA	39
6.SONUÇ VE ÖNERİLER	45
KAYNAKLAR	46



## SİMGELER VE KISALTMALAR

A-0 veya AGT	Anjiyotensinojen
ACE	Anjiyotensin converting enzim
A-I	Anjiyotensin I
A-II	Anjiyotensin II
ATS	Amerikan Toraks Derneği
Bç	Baz çifti
BT	Bilgisayarlı tomografi
CCD	Charge coupled device
CO	Karbonmonoksit
D	Delesyon
dATP	Deoksi Adenosin Trifosfat
dCTP	Deoksi Sitozin Trifosfat
dGTP	Deoksi Guanozin Trifosfat
DL <sub>co</sub>	Karbonmonoksit difüzyon kapasitesi
dNTP	Deoksi Nükleotid Trifosfat
DRAS	Doku Renin-Anjiyotensin Sistem
dTTP	Deoksi Timin Trifosfat
EKG	Elektrokardiyografi
EKO	Ekokardiyografi
ERS	Avrupa Solunum Derneği
FEV <sub>1</sub>	Birinci saniye zorlu ekspiratuar volüm
FVC	Zorlu vital kapasite
HLA	İnsan lökosit antijeni
HRAS	Hormonal Renin-Anjiyotensin Sistem
I	İnsersiyon
K <sub>co</sub>	Karbonmonoksit difüzyon katsayısı
MHC	Major histokompatibility kompleks
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
Pol	Polimeraz
SFT	Solunum fonksiyon testi
TBE	Tris Borat EDTA
UV	Ultra Viyole

**ŞEKİLLER**

	Sayfa
1. Sarkoidozda granülom oluşum mekanizmaları	9
2. Sarkoidozda tipik kazeifiye olmayan granülom	10
3. Sarkoidozlu hastalarda izlenen radyolojik değişiklikler	12
4. Anjiyotensinojen metabolizması	23
5. ACE geni primeri kullanılarak PCR ile amplifiye edilen hasta DNA'larının elektroforezdeki görünümü	36
6. Olguların genotip dağılımı	38

**TABLÖLAR**

	Sayfa
1. Sarkoidoza neden olan potansiyel enfeksiyöz etkenler ve organik/inorganik etkenler	6
2. Sarkoidozun radyolojik evrelemesi	11
3. Olguların demografik özellikleri ve SFT buguları	37
4. Olguların genotip ve allel dağılımları	45

## 1.GİRİŞ

Sarkoidoz, nedeni bilinmeyen, başlıca akciğerleri ve intratorasik lenf nodlarını tutan multisistemik granülamatöz bir hastalıktır (1). Sarkoidoz tüm etnik gruplarda görülebilir ve her yaş grubunda ortaya çıkabilir. Sarkoidoz insidansı 20- 39 yaşları arasında pik yapar ve sıklıkla 50 yaş öncesinde gelişir (2). İnsidansı çevresel faktörler, sürveliyans çalışmaları, predizpozan insan lökosit antijeni (HLA) allelleri ve diğer genetik faktörlerdeki farklılıklar nedeniyle dünyada değişkenlik gösterir. Toraks Derneği Klinik Sorunlar Çalışma Grubu 2007 yılında tamamlanan iki yıllık bir çalışma ile ülkemizde sarkoidozun insidansını yılda 100.000' de 4 olarak bildirmiştir (3).

Sarkoidozun nedenleri hala bilinmemektedir. Genetik yatkınlığı olan bireylerde henüz bilmediğimiz etkenler ile karşılaşma sonucunda oluştuğu kabul edilmektedir. İnsan lökosit antijenlerinin (HLA) antijen sunumundaki önemleri nedeniyle uzun süredir HLA sarkoidoz ilişkisi tartışılmaktadır. İlk olarak HLA- B8 ile akut sarkoidoz ilişkisi bildirilmiştir (4). Sarkoidozda HLA' nın rolü ile ilgili yapılan çalışmalarda HLA- DRB1 ve DQB1 allelleri hastalığa yatkınlıkla, HLA- DQB1\*0201 ve HLA- DRB1\*0301 akut hastalık ve iyi prognozla ilişkili bulunmuştur (5,6).

Sarkoidozda ailesel yatkınlık bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda sarkoidozlu olguların birinci ve ikinci derece akrabalarında, kontrol grubunun yakınlarına göre sarkoidoz riskinin anlamlı olarak yüksek olduğu gösterilmiştir. Sarkoidoz görülme sıklığı ırklara göre değişmektedir. Bu veriler sarkoidoz gelişiminde genetiğin katkısını desteklemektedir (7). Sarkoidozda HLA dışında pek çok aday gen çalışılmıştır ve halen çalışılmaktadır.

Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ACE) bir ektoenzim olup, esas görevi anjiyotensin I'i anjiyotensin II'ye dönüştürmektir. Ayrıca, ACE bradikinin, substans P ve nörokinin A'yı inaktive ederek akciğer inflamasyonuna neden olmaktadır (8). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda ACE düzeyi ile ilgili olarak, kromozom 17q23'te bulunan ACE geninin 16. intronunda insersiyon- delesyon polimorfizmi arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir. ACE geni polimorfizminde 3 tip genotip vardır. Bunlar; insersiyon homozigot II, delesyon homozigot DD, heterozigotlar ID' dir (9). Benession ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; DD genotipinde serum ACE düzeyinin, ID ve II genotipine göre iki kat fazla olduğu ortaya konulmuştur. (10).

Fruya ve arkadaşlarının farklı etnik gruplarda yaptıkları bir çalışmada ACE I/D genotipinin dağılım frekansı arasında II, ID, DD genotiplerinin frekanslarında farklılıklar olduğunu belirtmişlerdir (11).

Sarkoid granülomlarındaki epiteloid hücreleri aralarında ACE 'nin de olduğu 40'dan fazla sitokin ve mediyatör üretir. Sarkoid granülomlarındaki epiteloid hücreleri ACE içerir. Sarkoidozlu hastalardan elde edilen T- lenfositlerle, monosit hücre kültürlerinde ACE elde edilebilir. Sağlıklı gönüllüler ve sarkoidozlu hastalardaki ACE düzeyi, ACE geni üzerinde intron 16' da 287 baz parçalı Alu sekansının varlığı veya yokluğundan etkilenir. ACE I/D polimorfizmi ve sarkoidoz ilişkisini araştıran çalışmalar karmaşık sonuçlar çıkarmıştır. Yüksek ACE serum düzeyiyle ilişkili olan ACE D alleli Afro- Amerikanlarda ve Japon kadınlarda artmış sarkoidoz insidansı ile ilişkili bulunmuştur. Buna karşın Kafkasyalılar ve Japonlar üzerinde yapılan bir çalışmada ACE I/D polimorfizmi ve sarkoidoz duyarlılığı ve progresyonu arasında ilişki saptanmamıştır (12,13).

Bu çalışmayı; Türk sarkoidoz tanılı hastalarda ACE gen polimorfizmi sıklığını belirlemek ve hastalık ile ACE gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi tespit etmek amacıyla planladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Sarkoidoz

#### 2.1.1. Sarkoidoz Tanımı

İlk kez 1899 yılında Norveçli bir dermatolog olan Caesar Boeck tarafından ; deride büyük, soluk nükleuslu epiteloid hücreler ve az sayıda dev hücre içeren ve sarkoma benzediğini düşünülen nodüller için ‘derinin multiple benign sarkoidi’ terimi kullanılmıştır (1). Hastalıkla ilgili geniş bilgi veren ve halen kullanılmakta olan tanımlama, 1976 de ilan edilmiş ve halen güncelleştirilmekte olup 1991’de Kyoto’da Dünya Kongresinde şu şekilde raporlanmıştır: ‘Sarkoidoz nedeni bilinmeyen, multisistemik bir hastalıktır. Genellikle genç ve orta yaş erişkinleri etkiler ve sıklıkla bilateral hiler lenfadenopati, pulmoner infiltrasyon, göz ve deri lezyonlarıyla ortaya çıkar. Klinik ve radyolojik bulgular, nonkazeöz epiteloid hücre granülomlarını içeren histolojik bulgularla desteklendiğinde tanı konur. Granülomların bilinen nedenleri ve lokal sarkoid reaksiyonları dışlanmalıdır. Sıklıkla elde edilen immünolojik bulgular; derinin gecikmiş tip hipersensitivite yanıtında baskılanma ve tutulumun olduğu alanda artmış CD4/CD8 oranıdır. B-hücre hiperreaktivitesinin belirtisi olarak dolaşan immünkompleksler de saptanabilir. Klinik ve prognoz hastalığın ortaya çıkış şekli ve yaygınlığıyla koreledir. Eritema nodozum ve asemptomatik bilateral hiler lenfadenopati ile akut ortaya çıkan hastalık kendini sınırlayan bir kliniğin habercisiyken, özellikle multipl ekstrapulmoner lezyonlar akciğerler ve diğer organlarda progresif fibrozisle seyredir. Kortikosteroidler hastalık semptomlarını azaltır, inflamasyon ve granülom formasyonunu baskılar’ (1, 14, 15).

#### 2.1.2. Epidemiyoloji

Sarkoidoz tüm etnik gruplarda görülebilir ve her yaş grubunda ortaya çıkabilir. İnsidansı çevresel faktörler, sürveliyans çalışmaları, predizpozan HLA allelleri ve diğer genetik faktörlerdeki farklılıklar nedeniyle dünyada değişkenlik gösterir. Avrupa’ da en yüksek insidans İsveç’ te 24/100.000 görülür (16) . Amerika’da yapılan insidans çalışmaları siyah ırkta sarkoidoz insidansını 35,5/100.000, beyaz Amerikalılarda sarkoidoz insidansını 10,9/100.000 saptamış olup, siyah ırkta beyazlara göre sarkoidoz insidansının dikkat çekici oranda yüksek

olduğunu göstermiştir (2). Herhangi bir yaşta ortaya çıkabileceği gibi genellikle 50 yaşından önce gelişir. Erkeklere oranla kadınlarda daha sık görülür, 20-40 yaşları arasında insidansı pik yapabileceği gibi, kadınlarda 50 yaşın üzerinde ikinci pik raporlanmıştır (2).

Bugüne kadar ülkemizde sarkoidozun görülme sıklığı, tutulum şekilleri ve seyri ile ilgili yeterli veri yoktu. Toraks Derneği Klinik Sorunlar Çalışma Grubu 2007 yılında tamamlanan iki yıllık bir çalışma ile ülkemizde sarkoidozun görülme sıklığı ve klinik özelliklerini araştırmıştır. Bu çalışmanın sonucunda Türkiye’de insidans yılda 100.000’ de 4 olarak hesaplanmıştır (3).

Hastalığın ortaya çıkış şekli de cinsiyet ve etnik gruplara göre değişkenlik göstermektedir. Kadınlarda göz ve nörolojik tutulum, eritema nodosum sık görülürken erkeklerde hiperkalsemi daha sıktır. Siyahlarda ekstratorasik lenf nodu, karaciğer ve kemik iliği tutulumu beyazlara göre daha sık görülürken, Japonlarda kalp ve göz tutulumu daha sıktır (16).

### **2.1.3. Etyoloji ve Patogenez**

Sarkoidozun nedenleri hala bilinmemektedir. Genetik yatkınlığı olan bireylerde henüz bilmediğimiz etkenler ile karşılaşma sonucunda oluştuğu kabul edilmektedir.

#### **a. Genetik Faktörler**

Ailesel sarkoidoz, ilk kez 1923’ te tanı alan iki kız kardeş ile raporlandı. Yapılan çalışmalarda sarkoidoz tanılı hastaların birinci ve ikinci derece yakınlarında, kontrol grubunun yakınlarına göre sarkoidoz beş kat daha sık saptandı (17). Ayrıca Danimarkalı ve Finlandiyalı popülasyon esaslı ikiz çalışmaları; dizigotik ikizlerde sarkoidoz riskinin 7 kat arttığını göstermekteyken monozigot ikizlerde sarkoidoz riskinin 80 kat arttığını gösterdi (18).

Bu çalışmalardan elde edilen bulgular, sarkoidozun gelişimini veya hastalığın ortaya çıkış şeklini etkileyen gen varyasyonlarının olduğu hipotezine yol açmıştır. Schürman ve ark., 63 Alman aileden 138 gönüllü üzerinde mikrosatellit belirteçleri kullanarak genom ilişkili hastalık alanlarını araştırmışlardır. En çok göze çarpan bulgu, kromozom 6’ nın kısa kolu üzerindeki major histokompatibility kompleks (MHC) bölgesinin bağlantısıdır (19). Diğer çalışma serilerinde de bu bulguyla tutarlı

olarak , klas II MHC allel hastalık duyarlılığı ve fenotipi ilişkisi gösterilmiştir (17). Örneğin, HLA-DQB1\*0201 ve HLA-DRB1\*0301 akut tip sarkoidoz ve iyi prognozla ilişkilidir. Bu allelleri ve tümör nekrozis faktör (TNF) promotör polimorfizmi- 308A içeren haplotip analizlerinde, kontrol grubunun sadece %24'ünde bu haplotip saptanırken Löfgren tanılı hastaların %76'sının bu haplotipi taşıdığı gösterilmiştir (20). Kronik ve ağır tip sarkoidoz HLA- DQB1\*1501 ve HLA-DQB1\*0602 ile ilişkilidir. Antijen sunan hücrelerin granülom oluşumunu başlattığı bilinmesine rağmen, bu genetik HLA birlikteliğinin neden sonuç ilişkisini kanıtlamak zordur (21).

Sarkoidozda HLA dışında pek çok aday gen çalışılmıştır. TNF-alfa, interferon- gama, ve kemokin reseptörlerin fonksiyonları nedeniyle sarkoidozla ilişkili olduğu düşünülmüştür, ancak yapılan çalışmalarda sarkoidozla ilişkileri doğrulanmamıştır (19). Valentonyte ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada 6p kromozomu üzerindeki butyrophilin-like 2 (BTNL2) geni ile sarkoidoz ilişkisi gösterilmiş, diğer çalışmalarda da doğrulanmıştır. BTNL2, B7 ailesinin bir üyesidir, muhtemelen negatif kostimülator olarak fonksiyon gösterir, ancak sarkoidoza nasıl yol açtığı bilinmemektedir (22).

ACE düzeyi, ACE geni üzerinde intron 16' da 287 baz parçalı Alu sekansının varlığı veya yokluğundan etkilenir. ACE I/D polimorfizmi ve sarkoidoz ilişkisini araştıran çalışmalar karmaşık sonuçlar çıkarmıştır. Yüksek ACE serum düzeyiyle ilişkili olan ACE D alleli Afro- Amerikanlarda ve Japon kadınlarda artmış sarkoidoz insidansı ile ilişkili bulunmuştur. Buna karşın Kafkasyalılar ve Japonlar üzerinde yapılan bir çalışmada ACE I/D polimorfizmi ve sarkoidoz duyarlılığı ve progresyonu arasında ilişki saptanmamıştır (9,12,13). Sarkoidozda aday genler üzerinde halen çalışmalar devam etmektedir.

### **b.Kazanılmış Faktörler**

Sarkoidoz etyolojisinde değişik çevresel ajanlar suçlanmıştır (Tablo 1) (23-28). En sık akciğerler, gözler ve deri tutulduğu için havadaki antijenlere maruziyet üzerinde durulmuştur, ancak halen kesin neden saptanamamıştır (23-28).



Tablo 1. Sarkoidoza neden olan potansiyel enfeksiyöz etkenler ve organik/inorganik etkenler (28).

Enfeksiyöz etkenler	Mycobacterium tuberculosis Atipik mikobakteriler Propionibacterium acnes/granulosum Rickettsia helvetica Borrelia burgdorferi Mycoplasma spp. Virüsler (HSV, EBV v.b)
İnorganik etkenler	Alüminyum Zirkonyum Silika Silikon Talk
Organik etkenler	Polen Nişasta

Bugüne kadar çeşitli meslek grupları sarkoidoz açısından riskli kabul edilmiştir. ACCESS çalışmasında; tarımla uğraşmak, insektisid, pestisid maruziyeti sarkoidozla ilişkili bulunmuş, sağlık çalışanı olmak, odun tozu, çam poleni, metal, talk, silika maruziyeti ise sarkoidozla ilişkisiz bulunmuştur (30).

Sarkoidoz etyolojisinde uzun süredir tartışılan enfeksiyöz ajan mikobakterilerdir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tekniğiyle, sarkoidli dokularda mikobakteriyel ve propionil bakteriyel DNA ve RNA elde edilmiştir. Araştırmacılar sarkoidozlu hastalardan elde edilen serum örneklerinde mikobakteriyel antijenlere karşı oluşan; M. tuberculosis katG, M. tuberculosis heat-shock protein 70 ve M. tuberculosis mikoil transferaz antijen 85A gibi antikolar saptamışlardır (29). Mikobakterinin sarkoidoz etyolojisindeki rolü 31 çalışmayı, 875 sarkoidoz hastasını içeren bir metaanalizde de desteklenmiştir. Hastaların  $\frac{1}{4}$ 'ünde mikobakterinin moleküler kanıtı saptanmıştır (31).

Virüslerle ilgili olarak Epstein-Barr ve diğer herpes benzeri lenfotropik virüslere yönelik yapılan çalışmalar vardır; ancak sarkoidozda viral etyolojiyi destekleyecek yeterli kanıt yoktur (30).

İmmün sistemi etkileyen tedavilerle sarkoidoz gelişebilmektedir. HIV pozitif hastalarda ‘ Highly Active Antiretroviral Therapy (HAART)’ ile sarkoidoz geliştiğini bildiren çok sayıda çalışma vardır. HAART ile immün restorasyon sendromu gelişebilmektedir; böylece Th-1 immün yanıtın artışı sarkoidoz gelişimine yol açabilir (30). Th-1 yanıtını destekleyen interferon tedavisi sırasında veya sonrasında da sarkoidoz gelişimi bildirilmiştir (31,32).

TNF antagonistlerinden infliximab sarkoidoz tedavisinde kullanılırken, etanercept ile sarkoidoz gelişimini bildiren olgu sunumları vardır. Romatoid artrit tedavisi için etanercept verilen 2 olguda sarkoidoz gelişmiştir (33). Sarkoidoz tedavisinde infliximab ile başarılı sonuçlar alınmasına karşın seronegatif artritli bir olguda infliximab tedavisi sırasında, ankilozan spondilitli bir hastada tedavi kesildikten sonra sarkoidoz tablosunun ortaya çıktığı bildirilmiştir (34,35). TNF antagonistlerinin kullanımıyla sarkoidoz geliştiğini bildiren olgu sunumları giderek artmaktadır. Etanercept, infliximab ve adalimumabın üçüyle de sarkoidoz gelişiminin bildirilmiş olması bu paradoksal yan etkinin yeni bir sınıf etkisi olduğunu düşündürmüştür (36).

Günümüze kadar raporlanan birçok çevresel risk faktörüne bakılırsa, sarkoidoz gelişimi çeşitli çevresel etkenlerle oluşan immün yanıtın bir sonucudur.

### **c. İmmünopatogenez**

Sarkoidoz oluşumunda temel olay granülom gelişimidir. Sarkoid granülomunu başlatan ve devamlılığını sağlayan antijen sunan hücrelerle etkileşen CD4+ T lenfositlerdir. Bugün için ne olduğunu bilmediğimiz antijenler, antijen sunan hücrelerce CD4+ T lenfositlere sunulur. Sarkoid inflamatuvar sürecinin gelişimi boyunca çeşitli sitokinler Th1 lenfositleri yönlendirir. Bu sitokinler aracılığıyla T lenfositler ve makrofajları kapsayan inflamatuvar hücrelerin ortama gelişi, ortamda yaşama süresi, aktivasyonu ve çoğalması desteklenir. İnflamatuvar hücrelerin toplanmasının ardından sarkoid granülomunun oluşumu başlar. Sarkoid granülomu merkezde mononükleer fagositlerin , epitelooid ve multinükleer hücrelerin yerleştiği, çevresini başlıca CD4+ T lenfositlerden, nadir CD8+ T lenfosit ve B lenfositlerden

oluşan lenfosit grubunun sardığı sıkı bir yapıdır. Granülom oluşumunun basamakları:

- 1) immün hücrelerin hastalık bölgesinde toplanması,
- 2) yerel antijen sunan hücreler tarafından T hücrelerin tetiklenmesi
- 3) sitokinlerin salınımı olarak özetlenebilir ( Şekil 1) (37,33).

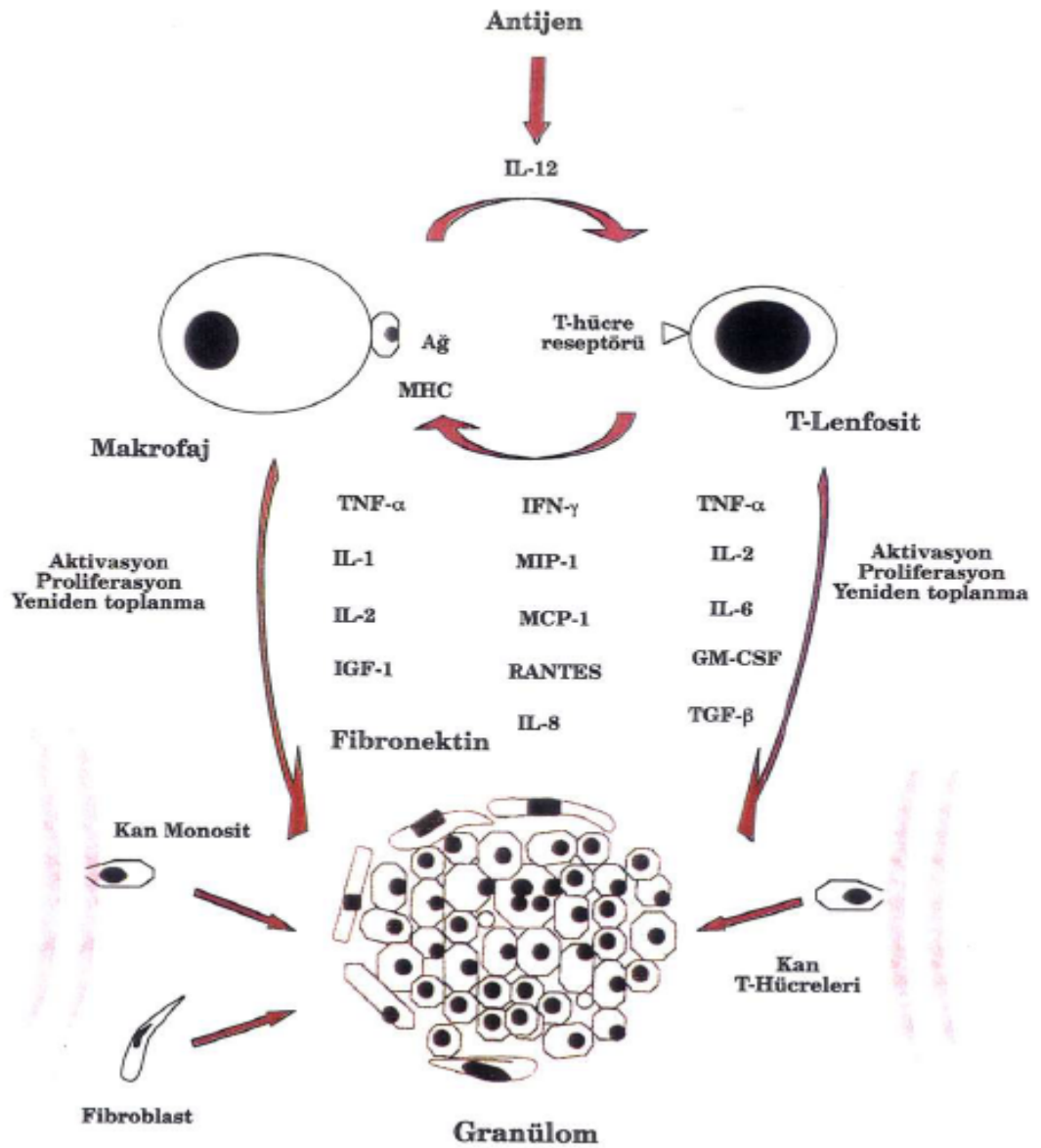
Sarkoidozun erken evrelerinde hastalıklı tüm bölgelerde yoğun olarak CD4+ T lenfositler toplanır. Granülom oluşan bölgelerde lokal olarak CD4+ T hücrelerin artmasına bağlı olarak CD4+ / CD8+ oranı çok yüksektir. Olguların %90' dan fazlasında akciğerler tutulduğu için alveol boşlukları ve interstisyumda lenfositler toplanır; bronkoalveolar lavajda (BAL) lenfositler artmış ve CD4+/ CD8+ oranı çok yüksek bulunur (38).

Sarkoid T hücrelerinin sitokin üretimi Th1/ Th2 dengesi ile açıklanabilir. Başlangıçta Th1 hücreler interferon- $\gamma$  ve intelökin 2 (IL-2) üretir ve Th1 yanıtının net sonucu hipersensitivite reaksiyonu ve granülom oluşumudur. Th1 aracılıklı bu süreç geri dönüşümlüdür. Bireyin duyarlılığına göre immün yanıtın Th2' lere kayması, IL-4 ve diğer Th2 sitokinlerin salınması ekstraselüler matriks proteinleri ve fibroblastlar için kemoatraktanların üretimine, sonuçta akciğer fibrozisine yol açar (37,38).

Sarkoidoz patogenezinde makrofaj kökenli sitokinler de rol oynar. Th1 yanıtını başlatan en önemli makrofaj kökenli mediatör IL- 12' dir; IL-12 aktive sarkoid T- hücrelerin çoğalmasını uyarır. Makrofaj Th1 immün yanıtta rol oynayan IL-15, IL-18, IL-27, interferon- $\gamma$ , TNF-  $\alpha$  gibi sitokinleri de üretir. İnflamatuar hücrelerin hastalık bölgesinde toplanmasında çok sayıda kemokin rol oynar (38,39).

İnflamatuar hücrelerin, çok sayıda sitokin ve kemokinin rol oynadığı süreçle sarkoid granülom oluşur. Olguların %60' ından fazlasında hastalık kendini sınırlar ve granülomlarda spontan rezolüsyon olurken, bir grup hastada masif granülom oluşumu söz konusudur, bir kısmında tedavi ile bile yanıt alınamayabilir. Kontrolsüz granülom oluşumu fibrozis ile sonuçlanabilir. Bu farklı seyirde etkili faktörler, sarkoidozda T- hücre apoptozunda , TNF-  $\alpha$ , Fas/ FasL sisteminin rolü hala tam aydınlanamamış, tartışılan konulardır (37). Bir çalışmada sarkoidozlu hastalardan alınan BAL lenfositlerinin apoptozise dirençli olduğu ve antiFas monoklonal antikoları ile apoptoz olmadığı bildirilmiştir (40). Sarkoid granülomlarında spontan remisyonu sağlayan mekanizmalar bilinmemektedir; apoptozun rol oynayabileceği

bilinmektedir. Sarkoidozlu hastalarda spontan remisyonda Fas (CD95) ile ilişkili apoptozun rolünün tartışıldığı bir çalışmada BAL lenfositlerinde CD95 ekspresyonuna bakılmış ve spontan remisyona giden olgularda değil, kronik seyreden olgularda CD95 ekspresyonu yüksek bulunmuştur. Sonuç olarak spontan remisyonda başka bir mekanizmanın rolü olabileceği, kronik olgularda apoptozisi indüklemek için CD95 ekspresyonunun yükseldiği, ancak apoptozise direnç nedeniyle remisyunun gelişmediği iddiası ortaya atılmıştır (41).

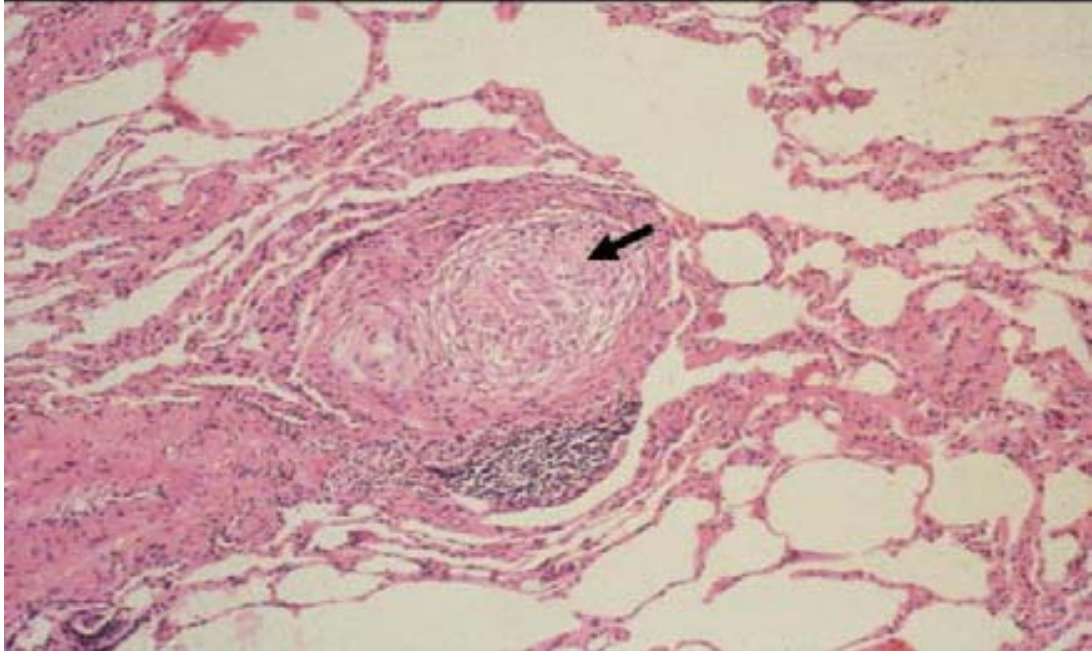


Şekil 1. Sarkoidozda granülom oluşum mekanizmaları (41).

### 2.1.4 Patoloji

Sarkoidozun karakteristik histopatolojik lezyonu kazeifikasyon nekrozu içermeyen, sıkı yapılı epitelooid hücre granülomlarıdır. Granülomlar epitelooid hücreler , dev hücreler ve lenfositler içerir. Dev hücreler asteroit cisimcikler ve schaumann cisimcikleri gibi sitoplazmik inklüzyonlar içerebilir. Bazen granülomlarda fokal koagülasyon nekrozu bulunabilir. Sarkoid granülomlarında perifeden başlayıp merkeze ilerleyen tam fibrozis ve / veya hyalinizasyonla sonuçlanan fibrotik değişiklikler gelişebilir. Granülomlar kaybolabilir veya fibroze ilerleyebilir (1).

Akciğerdeki granülomların çoğu bronşiyollerin çevresindeki bağ doku kılıflarında, subplevral veya perilobüler alanlarda yerleşir. Şekil 2’de sarkoidozdaki tipik granülomlardan biri görülmektedir (42,43).



Şekil – 2. Sarkoidozda tipik kazeifiye olmayan granülom (42).

### 2.1.5 Klinik

Sarkoidoz hiçbir yakınması olmayan bir hastada rastlantıyla çekilen akciğer grafisinde saptanabileceği gibi, konstitüsyonel belirtiler veya tutulan organ sisteminin ait bulgularla ortaya çıkabilir (44).

Sarkoidoz tüm organları tutabileceği gibi, hastaların %90’dan fazlasında akciğer veya intratorasik lenf nodu tutulumu görülür. İnsidental olarak akciğer

grafisinde bilateral hiler lenf nodu izlenen ve sarkoidoz tanısı alan hastaların yaklaşık 2/3' ü asemptomatiktir. Sarkoidoza bağlı görülen semptomlar sıklıkla pulmoner infiltratlara bağlı oluşan pulmoner semptomlardır (1,45).

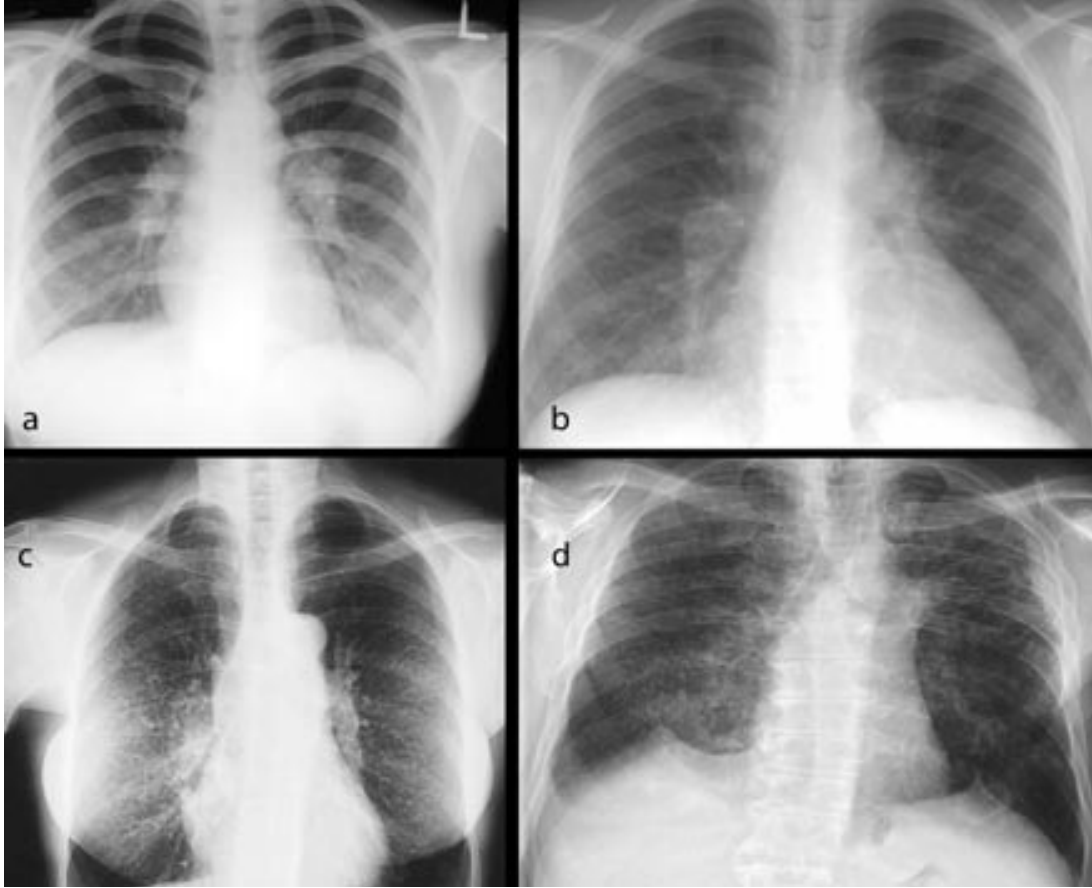
#### a. Akciğer Tutulumu

Sarkoidozlu hastaların  $\geq 90$ 'ında akciğer parankimi ve mediastinal lenf nodları etkilenmiştir (14). Dispne, kuru öksürük, göğüs ağrısı hastaların yaklaşık olarak yarısında görülür. Masif hiler ve mediastinal lenfadenopati genellikle asemptomatiktir, ancak bazı hastalarda iştahsızlık, retrosternal ağrı ve disfaji görülebilir. Parankim tutulumu daha yaygın olarak görülebilsede, havayolu obstrüksiyonu ve bronşektaziye yol açabilen havayolu tutulumu da görülebilir. Hastaların yaklaşık olarak %20'inde havayolu hiperreaktivitesi raporlanmıştır. Bu hastaların elektron mikroskopisinde; epitel permeabilite artışı ve yüzeysel sinir uçlarının açığa çıktığı, yaygın epitel hasarı gösterilmiştir. Granülatöz inflamasyon, fibrozis ve kalsifikasyona bağlı plevral kalınlaşma nadiren görülür. Hastaların % 10-20' inde granülatöz inflamasyon, skar dokusu ve fibrozis oluşumuna yol açarak kronik sarkoidoz gelişimine neden olur (14,45).

Sarkoidozda akciğer grafisine göre evreleme yapılmaktadır (Şekil 3) (Tablo 2).

Tablo 2. Sarkoidozun radyolojik evrelemesi

Evre	Radyolojik bulgu
Evre 0	Normal akciğer grafisi
Evre 1	Bilateral hiler lenfadenopati
Evre 2	Bilateral hiler lenf adenopati ve parankimal infiltratlar
Evre 3	Sadece parankimal infiltratlar
Evre 4	Fibrozis



Şekil 3. Sarkoidozlu hastalarda izlenen radyolojik değişiklikler (Evre 1: a, Evre 2: b, Evre 3:c, Evre 4: d)

Evre 1: bilateral hiler lenfadenopati (spontan remisyon %55-90)

Evre 2: bilateral hiler lenfadenopati ile birlikte pulmoner infiltrasyon (spontan remisyon (%40-70)

Evre 3: yalnızca pulmoner infiltrasyon (spontan remisyon %10-20)

Evre 4: pulmoner fibrozis (spontan remisyon %0)

Olguların büyük çoğunluğunun radyolojisi evre 1 veya 2 ile uyumludur. Sarkoidozlu hastaların % 20-30' undan daha fazlasında ilk tanı döneminde solunum fonksiyon testlerinde restriktif tip defekt saptanmasına rağmen, pek çok çalışmada obstrüktif tip defekt de bildirilmiştir (14).

Sarkoidozda pulmoner hipertansiyon da gelişebilmekte olup hastaların % 1-4' ünde görülür. Pulmoner hipertansiyonun mekanizması tam aydınlatılamamıştır; akciğer parankiminde fibrozis ve pulmoner damarlarda hasarlanma pulmoner damar yatağında kısıtlanmaya yol açabilir. Ayrıca, damarların kazeifikasyon nekrozu

içermeyen granülomlarla tutulabildiği de görülmüş olup lenfadenopatiye bağlı pulmoner damarlara dıştan bası da pulmoner hipertansiyona neden olabilir (45).

Sarkoidozda hastalığın başlangıç şekli, prognozu etkileyen bir faktördür. Hastalığın başlangıcı 3 şekilde olabilmektedir (45).

*1. Akut form:* Akut olarak eritema nodozum (EN) ve bilateral hiler lenfadenopati (BHL) ile başlayabilir. Genellikle bu tabloyu, Löfgren Sendromu olarak bilinen; ateş, poliartirit, eritema nodozum ve üveit oluşturur. EN, alt ekstremitelerde birkaç santimetre büyüklüğünde kırmızı ve hassas nodüller şeklindedir. Poliartirit şiddetli olup, genellikle hareketleri kısıtlar. Tipik olarak ayak bilekleri, ayak ve dizler etkilenirken; el ve el bileği seyrek etkilenir. Hastaların % 10' unda akciğer grafisi normaldir. Prognoz iyi olup tipik olarak birkaç hafta ya da ay içinde kendiliğinden düzelir. Heerfordt sendromu; anterior üveit, parotis bezi tutulumu, fasial sinir paralizisi ve ateş olarak bilinen akut tablodan oluşur.

*2. Subakut form:* İki yıldan daha kısa süren akciğer hastalığı belirtileri ya da semptomlarından oluşur.

*3. Kronik form:* İki yıldan daha uzun süren akciğer hastalığı bulguları ya da semptomlarından oluşur. Bu formda fibrokistik tutulum ve akciğer dışı sarkoidoz yaygındır.

### **b. Üst Solunum Yolları ve Oral Kavitenin Sarkoidozu**

Üst solunum yollarının sarkoidozu; nazal sinüsler ve larinksin tutulumuna bağlı olarak hastaların % 5-10' unda izlenir. Nazal konjesyona bağlı semptomlar, sinüzit, epistaksis sıklıkla kroniktir ve dekonjestanlara ve inhale steroide yanıtızdır. Kronik hastalık ve cerrahi girişim nazal septumda yapısal değişikliğe ve 'saddle nose' deformitesine neden olur. Nadiren larinks sarkoidozu kronik cilt lezyonları, lupus pernio ile ilişkilidir. Oral ve farenks sarkoidozu nadirdir, makroglossi, dil ve damakta kitle ile ortaya çıkabilir (45,46).

### **c. Deri Sarkoidozu**

Olguların % 25' inde deri tutulumu vardır. Eritema nodosum ve lupus pernio kolaylıkla tanınan tipik lezyonlardır; bu tipik lezyonlar dışında plaklar, makulopapüler döküntüler, deri altı nodüller, eski skarların belirginleşmesi, hipo ve hiperpigmente alanlar, alopesi görülebilir. Eritema nodosum genellikle bacak ön



yüzlerinde yerleşen ağrılı, kırmızı kabarıklıklardır; komşu eklemlerde sıklıkla şişlik olur (1,14,45,46).

Eritema nodosum, artrit ve bilateral hiler lenfadenopati ile başvuran hastalar sarkoidoz için tipiktir ve Löfgren sendromu olarak adlandırılır. Hastaların % 9-34'ünde görülür (16). Başka bir hastalık kuşkusu yoksa bu tablo varlığında doku tanısı olmadan sarkoidoz tanısı konabilir. Bu grup hastaların prognozu genellikle çok iyidir.

Lupus pernio ise sıklıkla kronik sarkoidoz işaretidir, kemik kistleri ve akciğer fibrozisine eşlik eder. Burun, yanaklar, dudak ve kulakta renk değişikliği ve sert plaklar oluşumu ile seyreder, sıklıkla burun mukozası da tutulur (46).

#### **d. Göz Tutulumu**

Göz tutulumunun sıklığı % 20-30 arasında değişen oranlarda bildirilmektedir; çeşitli göz lezyonları olabilirse de en sık üveit görülür. Üveit sıklıkla anterior üveit olarak görülür, ünilateral veya bilateral olabilir. Kronik üveit, kronik sarkoidozlu hastaların %20'inde izlenir ve glokom, katarakt ve körlüğe kadar gidebilir. Diğer göz lezyonlarına örnek olarak konjonktival foliküller, retinal vaskülit, lakrimal bezde büyüme, dakriyosistit, keratokonjonktivitis sikka sayılabilir (44,45).

#### **e. Kas- İskelet Sistemi Tutulumu**

Sarkoidozlu hastaların % 25-39'unda eklem ağrısı olurken, deformite oluşturan artrit nadirdir. Semptomatik kas tutulumu da nadir görülür; kronik miyopati olduğunda kortikosteroidlere bağlı miyopatiden ayrılması önemlidir. Kemik kistleri nadirdir, daha çok kronik cilt lezyonları olan olgularda görülür (45).

#### **f. Karaciğer ve Gastrointestinal Sistem Tutulumu**

Karaciğer biyopsilerinde % 50' nin üzerinde granüloamatöz inflamasyon saptanır, ancak hastaların çoğunun yakınması yoktur. Karaciğer tutulumuna bağlı olarak portal hipertansiyon, karaciğer yetmezliği veya mortalite çok nadirdir. Gastrointestinal sistem tutulumu % 10' dan azdır ve hastalarda bulgu vermez (1).

#### **g. Kalp Tutulumu**

Klinik olarak saptanan kalp tutulumu % 2-7 civarındadır; ancak otopsi

serilerinde % 25' e varan oranlar bildirilmektedir. Kalp tutulumu sarkoidozun diğer organ tutulumlarından önce, diğerleriyle eş zamanlı veya diğer tutulumlardan sonra ortaya çıkabilir. Klinik tablo granülomların lokalizasyonu veya yaygınlığıyla ilişkilidir. Klinik belirti ve bulgular benign aritmilerden, bloklar, kalp yetmezliği ve ventriküler fibrilasyona kadar giden tablolar olabilir.

Kardiyak sarkoidozda tanı güçtür; tanı güçlükleri ve tanının gecikmesi nedeniyle prognoz kötüdür. Kesin tanı yöntemi olan endomiyokardiyal biyopsi hem güç bir yöntemdir hem de tanı değeri düşüktür. Tanıda elektrokardiyografi, 24 saatlik holter monitörizasyonu, ekokardiyografi, talyumlu miyokard perfüzyon sintigrafisi, galyum sintigrafisi yardımcı tetkiklerdir. Son yıllarda kardiyak manyetik rezonans görüntüleme ve PET kardiyak sarkoidoz tanısında en çok üzerinde durulan yöntemlerdir (1,14,44,45).

#### **h. Sinir Sistemi Tutulumu**

Klinik olarak saptanabilen sinir sistemi tutulumu % 10' un altındadır. Nörosarkoidozun sık görülen formları kranial sinir tutulumu, özellikle fasyal paralizisi, hipotalamik ve hipopitüiter lezyonlardır, nadiren kitle lezyonu, periferik sinir tutulumları, lenfositik menenjit görülebilir. Nörosarkoidozlu hastaların % 62-74' ünde nörolojik belirtiler hastalığın başlangıç belirtileridir; bu olgularda diğer sistemik belirtiler daha sonra ortaya çıkar (45).

#### **ı. Hematolojik Tutulum**

Persistan, ağırlı adenopati hastaların % 5' inden azında izlenir, sıklıkla servikal, supraklaviküler, aksiller, veya epitrokleal lenf nodu tutulur. Ciddi olmayan anemi, lökopeni bulunabilir. Hematolojik bozukluklar splenomegali veya kemik iliği tutulumu ile ilgili olabilir. Lökomoid reaksiyon, eozinofili, trombositopeni nadirdir. Splenomegali genellikle hafif ve semptomsuzdur; ama bazen çok büyüyüp bası belirtileri ve hipersplenizme yol açabilir (44).

#### **i. Endokrin Bozukluklar**

Hiperkalsemi olguların % 2-10' unda bulunur, hiperkalsiüri daha sıktır. Granülomatöz inflamasyon alanlarındaki epitelooid hücreleri ve makrofajlar tarafından vitamin D'nin aktif formuna dönüştürülmesine bağlı olduğu

düşünülmektedir (44). Hiperkalsemi ve hiperkalsiürinin saptanıp düzeltilmemesi nefrokalsinozis ve böbrek yetmezliğine neden olabilir. Diyabetes insipitus, hipotiroidi, hipertiroidi, adrenal süpresyonu gibi endokrin bulgular çok nadirdir. Parotis bezlerinde şişme, ağrılı büyüme olabilir. Seyrek olarak böbrekler, üreme organları tutulabilir (44).

### 2.1.6 Tanı

Sarkoidoz tanısı uyumlu klinik tablo varlığında, histolojik olarak kazeifikasyon nekrozu içermeyen granülomların gösterilmesi ve aynı tabloya yol açabilecek diğer nedenlerin ekarte edilmesi ile konur. Tanıda histopatoloji önemlidir ama her zaman gerekli olmadığı gibi yeterli de değildir. Tüberküloz ve mantar infeksiyonu başta olmak üzere birçok infeksiyon etkeni, berilyum ve diğer bazı metallere maruziyet, yabancı cisim aspirasyonu, ilaç reaksiyonları granülom oluşturabilir (46).

Löfgren sendromu kliniğiyle başvuran hastalara biyopsi yapılmadan sarkoidoz tanısı konabilir. Ancak bunun dışındaki tüm olgularda, tutulan organlar arasında en kolay ulaşılabilir olanından histopatolojik örnekleme gerekir (1).

Sarkoidoz multisistem bir hastalık olduğundan hastayı ilk değerlendirmede anamnez, fizik incelemede akciğer dışı organ tutulumu konusunda dikkatli olunmalıdır. Bronkoskopi yapılarak bronkoalveolar lavaj, mukoza biyopsisi, transbronşiyal biyopsi, transbronşiyal iğne aspirasyonu yapılabilir. BAL' da yüksek CD4+/CD8+ T lenfosit oranı tanıyı destekleyen bir bulgudur. Tanı güçlüğü çekilen olgularda mediastinoskopi ve açık akciğer biyopsisi seçenek olabilir. Endobronşial ultrasound rehberliğinde transbronşiyal iğne aspirasyonu yapılmasının sarkoidoz tanısında yararlı ve güvenli olduğu bildirilmiştir (47).

Sarkoidoz tanısı konan tüm hastalara solunum fonksiyon testleri ( spirometri, difüzyon testi), tam kan, tam idrar tetkiki, tam biyokimya, 24 saatlik idrar kalsiyumu, EKG, PPD yapılmalı, her hastaya rutin göz konsültasyonu istenmelidir. Göz muayenesi dışındaki konsültasyonlar hastanın öyküsü, fizik muayene ve basit tetkikler ile diğer organlara ait tutulum düşünüldüğünde istenmelidir (47).

Akciğer grafisi bulguları atipikse, hastalık düşünüldüğü halde akciğer grafisi normale toraks BT ve özellikle HRCT tanıda yardımcıdır. BT'de genellikle subplevral ve bronkovasküler dağılım gösteren nodüller, interlobüler septumda

kalınlaşma, yapısal bozulma, konglomere kitleler izlenir; daha seyrek olarak bal peteği ile uyumlu değişiklikler, kist oluşumu ve bronşektazi, alveolar konsolidasyon izlenebilir (48).

Serum ACE düzeyinin yüksekliği tanıya yardımcıdır ancak tanısız değildir diğer granümatöz hastalıklarda ve hipertiroide de yüksek çıkabilir. ACE' nin normal olması tanıdan uzaklaştırır (46).

Hastaların yaklaşık % 85' inde PPD negatiftir. PPD'nin negatif bulunma sıklığı açısından tüberkülozun sık ve seyrek görüldüğü ülkeler açısından pek fark yoktur.

### 2.1.7 Tedavi

Sarkoidozun tedavi endikasyonları, en uygun tedavi şekli ve süresi tartışmalıdır. Tedavinin tartışmalı olmasının en önemli nedenleri; etyolojinin bilinmemesi, spontan remisyon olasılığı nedeniyle tüm olgulara tedavi gerekmemesi ve uygulanan tedavi yöntemlerinin hastalığı ortadan kaldırmayıp, sadece semptomların kontrolünü sağlıyor olmasıdır. Steroid tedavisi verilen hastalarda nöksler çok sık görülürken, tedavi almayan olgularda çok nadirdir (49,50).

Yeni güncellenen rehberlerde tedavi seçenekleri ayrıntılarıyla tartışılmıştır. Hastalara immünesüpresif tedavi başlama kararını etkileyen iki prensip vardır. İlk prensip "tehlikedir"; örneğin hastalık hayati risk taşıyordur veya ağır ve irreversible organ disfonksiyonuna yol açar. Burada klinisyen genellikle hastaya tedavi almasını önerir. Diğer prensip "yaşam standartlarıdır". Bu durumda hastalık hayati risk taşıymıyordu, ancak yaşam standartlarını bozan ciddi ve beklenmeyen komplikasyonlara yol açar. Hastaya tedavi önerilmeden önce hasta; immünesüpresif tedavinin kısıtlılıkları ve yan etkileri hakkında, bir diğer deyişle kar-zarar oranı hakkında bilgilendirilmelidir.

Tartışmasız kabul edilen mutlak tedavi endikasyonları kardiyak ve nörolojik tutulum, hiperkalsemi ve lokal tedaviye yanıt vermeyen göz tutulumudur. İnatçı öksürüğü olan hastaların tedavisinde inhale kortikosteroidler denensede başlangıç tedavisi veya tedavinin devamında faydalı değildirler ( 51).

Akciğer sarkoidozu rölatif bir endikasyondur. Evre I, semptomsuz olgular tedavisiz izlenmelidir. Evre II yada III olgular hafif ya da orta derecede semptomlu ise tedavi kararı yakın bir izleme 12 ayın sonuna bırakılabilir; çünkü bu grupta daha

düşük sıklıkta da olsa spontan remisyon olasılığı vardır. Bu hastalarda iki-üç aylık aralarla kontrol yapılması ve hastalıkta progresyon olursa tedavi başlanması uygundur. Semptomatik, solunum fonksiyon testleri bozuk, difüz infiltrasyonlu olgular tedavi edilmelidir. Semptomsuz bir olguda ancak persistan radyolojik infiltratlar ve akciğer fonksiyonlarında progresif kayıp tedaviyi gündeme getirmelidir.

Akut sarkoidozlu olgularda spontan remisyon sıklıktır. Spontan remisyon sıklıkla ilk altı ayda olur ama 2-5 yıla kadar uzayabilir. Hastalığı iki yıldan eski olan olgular kronik olgular olarak kabul edilir. Kronik olgularda genellikle ilerleyici veya tedaviyi gerektiren inatçı hastalık söz konusudur. Hastalığı iki yıldan uzun süreli olan ve son üç ay içinde solunum fonksiyonlarında bozulma saptanan olgular tedaviye alınmalıdır.

Evre IV olgular steroid/ immünsüpresif tedaviye pek yanıt vermez. Ancak semptomatik ya da fonksiyonel düzelme olup olmayacağını değerlendirmek için bir süre tedavi denenebilir. Bu grup olgulara daha çok destek tedavi gerekir (52).

Ekstrapulmoner sarkoidozda yukarıda sayılan mutlak tedavi endikasyonlarına ek olarak; ateş, kilo kaybı, anoreksi gibi persistan sistemik bulgular, fonksiyon bozukluğu ile seyreden karaciğer ve böbrek tutulumu, hipersplenizm, üst solunum sistemi tutulumu, görünümü bozan cilt lezyonu veya LAP varlığı, miyopati, ağız yada göz kuruluğu ile seyreden parotis yada lakrimal bez tutulumu durumlarında da sistemik tedavi düşünülebilir.

#### **a. Kortikosteroid Tedavisi**

Sistemik kortikostereoidler yaşamı tehdit eden organ tutulumu olan sarkoidozda ilk tedavi seçeneğidir. Kortikosteroid tedavisi için değişik protokoller önerilmektedir. Son güncelenen rehberlere göre başlangıç tedavisi olarak dört hafta boyunca 0.5/mg/kg/gün prednizolone tedavisi önerilmektedir. Doz daha sonra kademeli olarak altı hafta içinde idame tedavisi olan günlük 10 mg ve altına indirilir. Kortikosteroide bağlı kemik rezorpsiyonunu önlemek için ampirik olarak oral bifosfonat başlanması ve bazal kemik dansitometrisi yapılması önerilir. Tedavi süresi değişkenlik gösterir ancak toplam tedavi süresinin en az bir yıl olması genel olarak kabul edilmektedir (51).

Bazı hastalarda sarkoidozu kontrol altına almak için 10 mg/gün'den daha fazla prednizolona ihtiyaç duyulur. Bu gibi durumlarda prednizolon dozunu 10mg/gün ve altında tutabilmek için tedaviye steroid yardımcı ajanlar eklenebilir (53).

Genellikle 4-8 haftada tedaviye yanıt alınır. 6-8 haftada yanıt vermeyen olgular steroide dirençli kabul edilmeli ve tedavi kesilmelidir (53).

### **b. İnhaler Kortikosteroidler**

İnhaler steroidlerin sarkoidozdaki yeri henüz tam aydınlanmamıştır. Hafif pulmoner hastalığı olan olgularda başlangıçtaki oral steroid tedavisinin ardından idamede veya sadece öksürük yakınması olan ya da bronş hiperreaktivitesi olan olgularda düşünülebilir (49).

### **c. Steroide Alternatif İlaçlar**

Eritema nodosum, sarkoid poliartriti, akut üveit, fliktenüler konjonktivit gibi akut eksüdatif sarkoidozda nonsteroidal antiinflamatuvarlar oldukça yararlıdır. Eritema nodosumlu bir olguda 2-4 ay içinde semptomlar düzelir ve tedaviyi sürdürmek gerekmez. Günümüzde naproksen ya da indometazin gibi daha az toksik nonsteroid antiinflatuarlar daha sık kullanılmaktadır (54).

### **d. Antimikrobiyal İlaçlar**

Antimalaryal ilaç olarak geliştirilen klorokin ve hidroksiklorokin özellikle romatoid artritte antiinflamatuvar olarak kullanılmaktadır. Sarkoidozda deri lezyonlarında kullanımı çok eskilere dayanmaktadır. Klorokin tedavisinin sarkoidoza bağlı hiperkalsemi ve hiperkalsiüride steroid yerine kullanılabileceği kanıtlanmıştır. Sarkoidozun tedavi gerektiren karaciğer tutulumlarında kortikosteroidlere bağlı sorunlar çıkarsa ikinci sıra ilaç olarak klorokininin kullanılabileceği bildirilmektedir. Kortikosteroidlere yanıt vermeyen ya da steroide bağlı yan etkiler çıkan nörosarkoidozlu olgularda klorokin ve hidroksiklorokin alternatif ajanlar olarak önerilmektedir (49).

En önemli yan etkileri gastrointestinal semptomlar ve retinal toksisitedir. Hidroksiklorokininin oküler toksisite riski klorokine göre daha düşüktür. Klorokin 250-500 mg/gün, hidroksiklorokin 200-400 mg/gün kullanılabilir. 6 aylık

kullanımdan sonra en az 6 ay ara verilmesi önerilmektedir. Daha uzun kullanımlarda 3-6 ayda bir göz kontrolü gerekir (14,45,49).

Deri sarkoidozunda minosiklin ve doksisisiklinin yararlı olabileceğini belirten yayımlar da vardır (55).

### **e. Sitotoksik İlaçlar**

Sitotoksik ve immünsüpresif ilaçlar son yıllarda nonneoplastik inflamatuvar hastalıkların tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır. Hastalığın steroidde yanıtı olmaması ya da önemli steroid yan etkilerinin çıkması bu ilaçlar için başlıca endikasyondur. Bu endikasyon kronik sarkoidoz için de tartışılmaktadır. Steroide dirençli ya da steroid yan etkilerini tolere edemeyen kronik olgularda bu ilaçların kullanılabilmesi belirtilmektedir. Bu ilaçların etkinlikleri ve yan etkileri değişmekle birlikte ortak yan etkileri hematolojik ve gastrointestinal toksisite, teratojenik ve karsinojenik etkidir.

Metotreksat (MTX) bir folik asit antagonistidir. Yüksek dozlarda sitotoksik ve sitostatiktir; düşük dozlarda ise güçlü bir antiinflamatuvar ve immünmodülatör bir ajandır. Kronik refrakter olgularda, steroid yan etkileri tolere edilemediğinde kullanılabilir. Akut olgularda steroidle birlikte verildiğinde altı aylık kullanımdan sonraki dönemde steroid dozunda azalma sağladığı (steroid sparing etkisi) gösterilmiştir. Önerilen doz haftada bir 10 mg'dır (49,56).

Azatiopürin bir pürin analogudur. Birçok antiinflamatuvar hastalıkta 'steroid sparing' ajan olarak kullanılmaktadır. Tedaviye 50 mg/gün dozunda başlanması, 2-4 haftada bir 25-50 mg artırılarak 100-200 mg/gün dozunda tedaviye devam edilmesi önerilmektedir (49).

Klorambusil, alkilleyici ajanlardandır. Düşük doz steroid ile kombine edildiğinde iyi sonuçlar bildirilmektedir. Ancak klorambusilin diğer ajanlardan daha etkili olmaması veya yan etkilerinin fazla olması nedeniyle pek tercih edilmemektedir (49).

Siklofosfamid, alkilleyici ajanlardandır. T- hücre aktivasyonunu ve B- hücre immünglobulin üretimini baskılar. Günde 100-150 mg oral ya da 2 haftada bir 1-1.5 g intravenöz olarak uygulanabilir (54).

Siklosporin A, sitokin sentezini etkileyen, fungal kökenli, nonsitotoksik, immünsüpresif bir ajandır. Siklosporin A'nın yararlı olduğunu bildiren olgu

sunularına ve teorik olarak yararlı olmasının beklenmesine karşın kontrollü bir çalışmada pulmoner sarkoidozda etkili bulunmamıştır (57).

Antisitokin tedaviler: Sarkoidozdaki inflamasyonda rol oynayan sitokinler arasında TNF- $\alpha$  ve IL-12 önemli bir yer tutar. Pentoksifilin, TNF-  $\alpha$  ve IL-12 salınımını inhibe ederek steroide dirençli olgularda kullanılabileceği gösterilmiştir (49).

TNF- $\alpha$  antagonisti monoklonal antikorların sarkoidoz tedavisinde yararlı olduğu görülmüştür. Bu gruptan infliximab ile başarılı sonuçlar bildirilirken, etanercept etkisiz bulunmuştur; adalimumab ile ilgili bilgiler şimdilik yetersizdir (49).

## **2.2. ACE ( Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim)**

Anjiyotensin konverting enzim (ACE), anjiyotensin I' i anjiyotensin II' ye çeviren, bradikinin, substant P ve nörokinin A' yı inaktive eden ve kan basıncının düzenlenmesinde önemli görevi olan bir çinko metallopeptidazdır. ACE, anjiyotensin metabolizmasındaki rolü nedeniyle, renin- anjiyotensin sisteminin en önemli enzimlerinden biridir (8,58).

### **2.2.1.Anjiyotensin**

Anjiyotensinler, insan ve memelilerde oluşan peptid yapılı otakoidlerdir. Güçlü vazokonstrüktör etki yaparlar. Esas olarak hormonal (endokrin) ve parakrin uyarı yaparlar (59).

Vücutta anjiyotensin üreten iki sistem vardır. Bunlar;

- 1) Hormonal renin-anjiyotensin sistemi (HRAS): Böbreklerde jukstaglomerüler hücrelerin salgıladığı renin kan dolaşımında plazmanın  $\alpha$ 2- globulin fonksiyonunda bulunan anjiyotensinojenden anjiyotensin peptidleri oluşturur. Bu anjiyotensin peptidleri; anjiyotensin I, II, III' tür. Hormonal fonksiyon yapan esas anjiyotensin, anjiyotensin II olduğundan anjiyotensin denildiği zaman sadece bu madde anlaşılır.
- 2) Doku renin-anjiyotensin sistemi (DRAS): Dolaşımdaki anjiyotensin II' yi üreten sisteme ek olarak çeşitli dokularda, belirli yerlerde kullanılmak üzere anjiyotensin II üreten bağımsız renin- anjiyotensin sistemlerinin bulunduğu bilinmektedir. Kan damarları, uterus, plasenta ve fötal membranlarda renin- anjiyotensin sisteminin çeşitli üyelerinin bulunduğu belirtilmiştir. Amniyon sıvısında yüksek miktarda



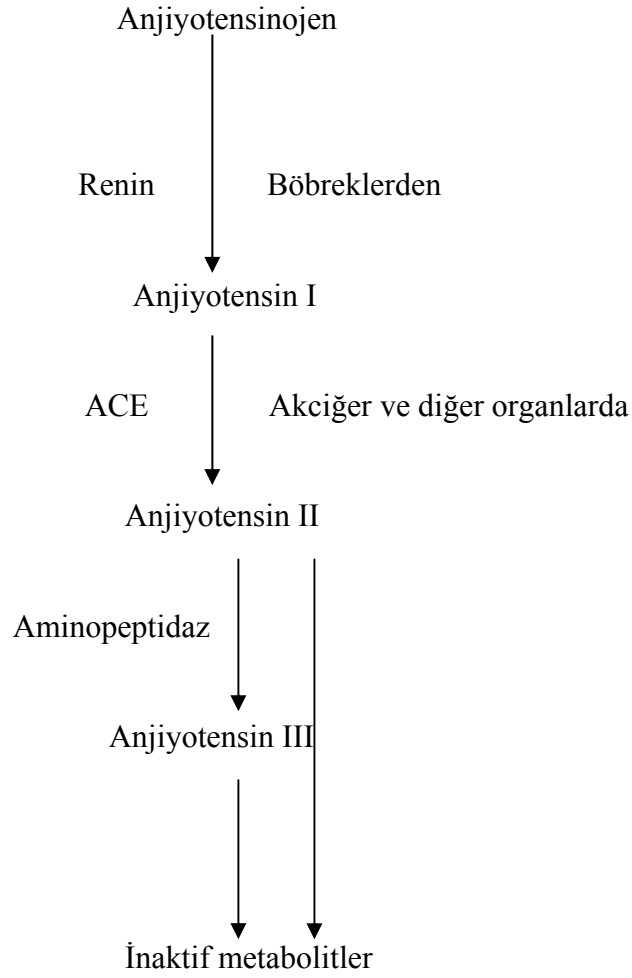
prorenin bulunmaktadır. Ayrıca sürrenal korteks, testisler ve overler, pineal bez, beyin ve hipofizin  n ve ara loblarında da doku renin- anjiyotensin sistemleri (DRAS) vardır. DRAS' ın fonksiyonları bilinmemekle birlikte, doku reninin dolaşımdaki renin miktarına katkısı çok azdır. Plazma renin aktivitesi, böbrekler çıkarıldığı takdirde hemen hemen sıfıra düşer.

HRAS ve DRAS birbirinden bağımsız bir şekilde çalışırlar. Plazma renin ve anjiyotensin düzeyi sadece HRAS' ın etkinlik derecesini yansıtır. DRAS' ın etkinliği  l t değildir (59).

### **2.2.2.Renin**

Renin, bir çeşit asid proteaz türüdür. Renin salgılayan hücrelerde ve plazmada reninin inaktif prekürsör şekli olan prorenin varlığı gösterilmiştir. İnsanda dolaşan kandaki reninin yaklaşık %90' ı prorenin şeklindedir. Kandaki aktif reninin büyük kısmının ve proreninin yaklaşık %90'nının kaynağı böbreklerdir. Renin, plazma proteinlerinden renin substratına etki ederek onu, vazoaktif bir peptid olan anjiyotensine parçalar.

Anjiyotensinojen  zerine reninin etkisi sonucu bir dekapeptid olan anjiyotensin I oluşur. Anjiyotensinin büyük bir kısmı akciğerlerde bulunan anjiyotensin converting enzim ( ACE) ile anjiyotensin II' ye dönüştürülür (şekil 4) (60).



Şekil 4. Anjiyotensinojen Metabolizması

Anjiyotensinojen ve anjiyotensin, renin anjiyotensin sisteminin (RAS) en önemli bileşenleridir. Anjiyotensinojen renin için temel substrattır ve renin tarafından anjiyotensin I'e dönüştürülür (Şekil 4).

### 2.2.3. Anjiyotensin II Metabolizması

Anjiotensin II, anjiyotensinaz olarak adlandırılan bir grup enzim tarafından hızla parçalanır. İnsanda yarı ömrü 1-2 dakika kadardır. Bu enzim grubunda yer alan aminopeptidaz anjiyotensin II' nin N terminalinden biasparik asit (Asp) kopartarak diğer peptid parçalardan farklı ve fizyolojik açıdan aktif olan bir heptapeptid oluşturur. Bu peptide anjiyotensin III denir. Anjiotensinaz aktivitesi eritrositlerde ve çeşitli dokularda da bulunur. Anjiotensin I ayrıca akciğer hariç diğer dokuların damar

duvarları tarafından özel mekanizmalarla yakalanarak dolaşımdan uzaklaştırılmaktadır (58,60).

#### **2.2.4. Anjiyotensinin Etkileri**

Anjiyotensin I'in bilinen tek fonksiyonu anjiyotensin II prekürsörlüğüdür. Anjiyotensin II, arteriyollerde konstrüksiyona yol açarak sistolik ve diyastolik kan basıncını yükseltir. Bilinen en güçlü vazokonstrüktör maddelerden biri olan anjiotensin II aynı miktarda noradrenalinden 4-8 kat daha aktiftir. Ancak hiponatremi bulunan kişilerde siroz ve diğer hastalıkları olan kişilerde bunun baskılayıcı aktivitesi azalır. Bu kişilerde dolaşımdaki anjiyotensin II konsantrasyonu yükselir. Bu yükselme damar düz kaslarındaki anjiyotensin II reseptörlerinin azalmasına yol açar. Söz konusu durumlarda böylece anjiyotensin II' ye karşı vazopressör yanıt da azalır. Renin anjiyotensin sistemi, aldosteron salınımının en önemli düzenleyicisidir. Anjiyotensin II direk etki ile sürrenal korteksten aldosteron salınımını artırır. Anjiotensin II'nin diğer etkileri arasında, postganglionik sempatik nöronlara direk etki ile nöradrenalin salınımının kolaylaştırılması, mezenşimal hücrelerin kasılması sonucu glomerüler filtrasyon hızının azalması ve böbrekler üzerine başka direkt etkiler bulunmaktadır. Anjiyotensin beyinde de etkilidir. Kan basıncını, sıvı alımını, ADH ve ACTH salınımını artırır (60).

Anjiyotensin III; anjiyotensin II'nin vazopressör etkisinin % 40'ına, aldosteron etkisinin ise % 100'üne sahiptir.

#### **2.2.5. Anjiyotensin Converting Enzim (ACE) Yapısı ve Fonksiyonları**

ACE kan basıncı düzenlenmesinde önemli rol oynayan bir çinko metallopeptidazdır. ACE, akciğerde esas olarak damar endotel hücrelerinde ve onların membranı üzerine yerleşmiştir. Bu enzim akciğerden başka, böbrekte glomerüllerin endotelinde, jukstaglomerüler aparatı ve ayrıca proksimal tubulusların fırçalı kenarı üzerinde bulunur. Damar endotel hücreleri, çeşitli emici epiteliyal hücreler, makrofajlar ve erkek germ hücreleri gibi birkaç hücre tipinde membrana bağlı olarak, seminal, amniyotik ve plazma gibi biyolojik sıvılarda ise serbest form halindedir (58).

ACE bir ektoenzim olup, somatik (endotelial) ve germinal (testiküler) form olmak üzere iki formda bulunur. Bunlardan somatik form bütün vücutta, germinal

form ise spermelerde bulunur. ACE enziminin iki formunun yapısı her birine özgü DNA'ların moleküler klonlanmasıyla belirlenmiştir. ACE' nin somatik formu daha geniş olup epitelyum hücrelerinin fırçamsı kenarında ve endotelyumda mevcuttur. Germinal formu ise testisin germinal hücrelerinde bulunur. Somatik formu kodlayan mRNA 4,3 kb, germinal formu kodlayan mRNA ise daha kısa olup 3 kb'dır. ACE' nin somatik formu, 2 kat internal homolojiye sahiptir. Homolog domainlerin her biri aktif olduğuna inanılan bölgeler taşır ve gen duplikasyonu gösterir. Burada bazı ekzonların hacim ve nükleotid dizileri birbirine benzemektedir. ACE' nin germinal formu ise bu domainlerden sadece birini içerir ve farklı aminoterminal bölgeye sahiptir. Bu iki formun ekspresyonu farklı hormonal düzenlemelerin etkisi altındadır. Germinal form, androjenler tarafından uyarılırken, somatik form glukokortikoidler tarafından uyarılır. Her iki formunun da tek bir genden ya farklı bir birleşme yoluyla veya farklı promoterlerden üretildiği belirtilmektedir (59).

ACE, plazmada ve endotelial hücrelerin yüzeyinde, anjiyotensin I'den (A-I), histidin-lösini ayırarak anjiyotensin II' ye dönüştüren bir dipeptidil-karboksiptidazdır. Dönüşüm anjiyotensin I' den karboksil ucundaki iki aminoasidin (histidin- lösün dipeptid) koparılmasıyla olur. Böylece oluşan anjiyotensin II bir okatapeptittir ve kısaca anjiyotensin olarak adlandırılır. Bu dönüşüm vücudun diğer birçok bölümlerinde de görülmekle birlikte büyük oranda kanın akciğerlerden geçişi sırasında gerçekleşir (58,60).

ACE' nin önemli bir fonksiyonu daha vardır. Bu fonksiyonu sayesinde inflamasyon cevabın vasküler kontrolünde rolü olan vazodilatör bir nanopeptid olan bradikinin, C ucundan iki aminoasiti (fenil alanin- arjinin) kopararak onu inaktive eder. Bu nedenle ACE' ye kininaz II adı da verilir. Bradikininin ACE' ye karşı afinitesi, anjiyotensin I'inkinden daha fazladır (60).

ACE' nin son görevi, bir çok fizyolojik aktiviteye sahip taşıkinin peptidi olan substant P ile nörokinin A'yı da inaktive etmesidir.

ACE esasen kan damarları endotelinde yerleşmiş olup endotel hasarının olması durumunda, plazma ACE düzeyinde artış görülmektedir. Ayrıca erişkin respiratuar distres sendromu gibi durumlarda da ACE düzeylerinde artış görülür. Sarkoidoz gibi granüloamatöz hastalıkları takibi ve teşhisi için de ACE düzeyindeki artış kullanılmaktadır. Çünkü ACE düzeyinin yükselmesi sarkoidozda sıklıkla gözlenen klinik bir özelliktir. Plazma ACE düzeyi, endotelial hasarın potansiyel

belirteci olarak kullanılabilir (60).

### **2.2.6. Anjiyotensin Converting Enzim ( ACE) Geni**

Sağlıklı kişilerin plazma ACE düzeylerinde çevresel veya hormonal parametrelerdeki değişikliklerle açıklanamayan farklılıkların olduğu belirtilmektedir. Aynı ailenin üyeleriyle yapılan bir çalışmada, bireylerin plazma ACE düzeyleri arasındaki farklılıkların, polimorfik bir genden kaynaklanmış olduğu belirlenmiştir. Bu etkiden sorumlu gen ise ACE genidir (58).

ACE geni, insanda 17. kromozomun 17q23 bandında lokalize olmuştur. Bu gen 21 kilobaz (kb) büyüklüğünde ve 26 ekzon ile 25 introndan oluşmaktadır. Ekzonların her birinin nükleotid sayısı en az 88 ( 16. ekzon) en fazla 481 ( 26. ekzon) baz çiftinden oluşurken, intronların nükleotid sayısı en az 150 (17 ve 25. intronlar) en fazla 2000 (20. intron) baz çiftinden oluşur. ACE geninden iki farklı mRNA transkribe olur. Bunlardan 4,3 kb'lık büyük somatik tip ACE mRNA'sı 13. ekzon hariç 12'den 26'ya kadar olan 25 ekzondan transkribe edilmiştir. 3 kb'lık daha küçük olan germinal ACE mRNA'sı ise 13. ekzondan 26. ekzona kadar olan 14 ekzonluk bölümden transkribe edilmiştir (58).

ACE geni, fonksiyonel olarak aktif ve birbirine benzer iki bölge içerir. Bu homoloji gösteren ekzonlar sayısı ve baz dizilişi bakımından birbirine çok benzerler. Örneğin, aktif bölgede ortak dizi içeren 7. ekzon ile 20. ekzon birbirlerine %80 oranında benzerken, 8. ekzon ile 21. ekzon % 68 oranında benzerlik gösterir. Ekzonların aksine genin iki aktif bölgesindeki intronlar baz dizilişi bakımından benzerlik gösterirken, farklı sayıda bazlardan oluşmaktadır. Genin 3' ucundaki intronlar genin 5' ucundaki homolog intronlardan daha geniştir (59).

ACE geninin farklı iki promoteri vardır. Bunlar somatik ve germinal promoterlerdir. Somatik promoter; genin ilk ekzonunun 5' bölgesinde lokalize olmuştur. Germinal promoter ise, spesifik testiküler ACE geninin 5' bölgesinde 12. intronda lokalize olduğu belirlenmiştir. ACE geninin bu iki alternatif promoteri farklı hücre tiplerinde aktiftir. Somatik promoter, endotel, epitelium ve nöral hücre tiplerinde aktiftir. Oysa germinal promoter sadece erkek germ hücrelerinde aktiftir (58).

### 2.2.7. Anjiyotensin Converting Enzim Gen Polimorfizmi

İnsan ACE geni 17q23 kromozomuna lokalize olmuş olup 1850 bç büyüklüğünde olan 16. intronda 287 bç'lik DNA fragmentlerinin varlığı veya yokluğuna bağlı insersiyon (I) / delesyon (D) polimorfizmi tanımlanmıştır. Son zamanlarda bu polimorfizm ile ACE düzeyi arasında bir ilişki olduğu ortaya konmuştur (8,9,13).

Plazma ACE düzeyi bireyde sabittir fakat kişiler arasında farklılık gösterir. Aynı ailenin üyeleriyle yapılan bir çalışmada bireylerin plazma ACE düzeyleri arasındaki farklılıkların, ACE geni I/D polimorfizminden kaynaklandığı tespit edilmiştir (12,13).

ACE geni polimorfizminde 3 tip genotip vardır. Bunlar; insersiyon homozigot II, delesyon homozigot DD, heterozigotlar ID' dir. Serum ACE düzeylerinde bu 3 grup arasında belirgin farklılıklar bulunmaktadır. Homozigot delesyon (DD) genotipli grubun serum ACE düzeyinin, homozigot insersiyon (II) gruptan yaklaşık iki kat yüksek olduğu, heterozigot genotipli (ID) grupta ise ACE düzeyinin orta seviyede olduğu belirtilmiştir (8).

Farklı etnik grupların da II, ID, DD genotiplerinin dağılım frekanslarında farklılıklar olduğu belirtilmiştir. Yapılan çalışmalara göre ACE gen mutasyonlarının Japon ırkına göre Kafkas ırkında daha sık görüldüğü belirtilmiştir (11,13).

Urhan ve arkadaşlarının astım ile ACE gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi saptamak amacıyla yapmış oldukları çalışmada, astımlı hastalarda DD genotipi oranları kontrol grubuna göre yüksek bulunmuş, fakat bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (61).

Serum ACE düzeyi kadar, T lenfosit ACE düzeyleri de homozigot D aleli taşıyan hastalarda, diğer kişilerden daha yüksektir. ACE I/D polimorfizmi doku veya serum ACE düzeylerinin düzenlenmesini sadece genetik etkenler ile açıklamak mümkün değildir. Genetik etkilere ilave olarak henüz açıklanamayan etkenlerin de olduğu belirtilmektedir.

### 3.GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1.Çalışma Popülasyonu

Bu çalışma Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalında sarkoidoz tanısı konmuş yaşları ortalaması  $51.6 \pm 11.3$  olan 70 sarkoidozlu hasta ile kontrol amacıyla 85 sağlıklı kişi olmak üzere toplam 155 kişiden alınan venöz kandan elde edilen DNA ile yapıldı. 13.08.2010 tarih 2010/7 nolu etik kurul onayı alındı. Hastadan alınan venöz kanda ACE gen I/D polimorfizmi değerlendirmek üzere, Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Laboratuvarında gerekli işlemler yapılmıştır. Sarkoidoz tanısı, klinik ve radyolojik bulgular eşliğinde, histopatolojik olarak “nekroz içermeyen granülatöz itihap” ın gösterilmesi ve mikobakterial enfeksiyonun dışlanması ile konmuştur.

Tüm olgularda, anamnez, fizik muayene, göğüs radyografisi, EKG, sarkoidozun tanı ve takibi için öngörülen biyokimyasal kan tetkikleri, DLCO ve solunum fonksiyon testini içeren standart bir klinik değerlendirme yapıldı. Birinci saniyedeki zorlu ekspiratuar volüm (FEV1), zorlu vital kapasite (FVC), FEV1/FVC , karbonmonoksit için difüzyon kapasitesi (DLCO), spesifik difüzyon (DLCO/Va) hastanın yaşı, cinsiyeti, ve boyuna göre beklenen değerlerin yüzdesi şeklinde kaydedildi. DLCO ölçümleri ek olarak hemoglobin değerlerine göre düzeltildi. Solunum fonksiyon testlerinde FVC normal sınırlar içindeyken FEV1/FVC oranının % 70'in altında olması obstruktif patern, FVC'nin % 80'in altında olması restriktif patern, DLCO'nun beklenen değerinin % 81'inin altında olması difüzyon kapasitesinde azalma olarak kabul edildi

#### 3.2. Kullanılan Cihaz ve Gereçler

Buzdolabı

Soğutmalı santrifüj

Shakerli su banyosu

Su banyosu

Hassas terazi

Manyetik karıştırıcı (ısıtıcılı)

Vorteks

Derin dondurucu

Mikro dalga fırın  
Elektroforez için güç kaynağı  
PCR cihazı (thermall cyclers)  
UV transilüminatör  
Otomatik pipet seti  
Pastör pipeti  
Beher  
Mezür  
Ependörf tüpü  
Falkon tüpü  
Deney tüpü

### **3.3. Kullanılan Malzeme ve Kimyasal Maddeler**

1. 20 nükleotidlik Primer
2. 2- Propanol
3. Absolü Alkol
4. ACE Kiti
5. Agarose
6. Borik asit
7. dATP
8. dCTP
9. dGTP
10. dTTP
11. EDTA
12. Heparin
13. EDTA'lı vacutainer tüp (16 ml)
14. Eldiven (Steril ameliyat eldiveni)
15. Ethidium bromide
16. HCl
17. Loading buffer
18. MgCl<sub>2</sub> PCR için
19. Mikropipet ucu (Silikonlu 1 ml)
20. Mikropipet ucu ( Silikonlu 10 µl)



21. Mikropipet ucu ( Silikonlu 100  $\mu$ l)
22. Moleküler weight marker ( 1 kb)
23. NaCl
24. NaOH
25. Pastör pipeti
26. PCR Buffer ( 10 X)
27. Polypropilen kapaklı tüp ( 0.2 ml)
28. Polypropilen kapaklı tüp (1.5 ml)
29. Polypropilen kapalı tüp (50 ml)
30. Potasyum klorür (KCl)
31. Proteinaz K
32. Sodyum dodasil sülfat
33. Taq DNA polymerase
34. Tris EDTA
35. Trisma base

### 3.4.Yöntem

#### 3.4.1.DNA izolasyonu

##### a. Tuz Yöntemiyle DNA İzolasyonunda Kullanılan Çözeltiler

-Lysis Buffer ( RCL= red cell lysis )

- 2 m'lık Tris HCl'den 10 ml alınıp 5 ml 1 M'lık MgCl ile karıştırıldı.
- Distile su ile 1000 ml' e tamamlandı
- Manyetik karıştırıcıda karıştırıldı

-2 M tris HCl

- 315,2 gr Tris HCl tartıldı. Bir mezür içine alınıp üzeri distile su ile 1000 ml' ye tamamlandı. Tris HCl pH= 7.5' e ( 1 M 'lık NaOH veya 0.1 M'lık HCl ile ) ayarlandı.

-1 M MgCl<sub>2</sub>

- 95.3 gr MgCl<sub>2</sub> tartıldı. Bir mezür içine alınıp üzeri distile su ile 1000 ml' ye tamamlandı.

-0.1M'lık HCl

- % 37'lik HCl'den 8.28 ml alındı, distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı. 0.1M'lık NaOH 40 gr NaOH tartılıp üzeri bir mezür içerisinde distile su ile

1000 ml'ye tamamlandı.

-Sodyum EDTA (SE)

- Bir mezür içine 25 ml 3 M'lık NaCl ile 50 ml 0.5 M'lık EDTA kondu, üzeri distile su ile 1000 ml' ye tamamlandı.

-3 M NaCl

- 175.32 gr NaCl tartıldı. Bir mezürde üzeri distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.

-0.5 M EDTA

- 186.1 gr EDTA tartıldı. Bir mezür içinde distile su ile 1000 ml' ye tamamlandı.
- Mekanik karıştırıcıda karıştırılarak pH= 8'e ayarlandı.

-Sodyum Klorür ( 5 M NaCl)

- 292.2 gr NaCl tartıldı. Bir mezür içinde distile su ile 1000 ml'ye tamamlandı.
- Manyetik karıştırıcıda çözdürüldü.

-%10 Sodyum Dodasil Sülfat (SDS) Çözeltisi

- Sodyum dodasil sülfattan 10 gr alınıp üzeri distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.
- Manyetik karıştırıcıda ısıtılarak karıştırıldı.
- pH= 7.2'e ayarlandı (pH 1M NaOH ile ayarlandı)
- 0.22 µ'luk filtreden geçirilerek sterilize edildi ve oda ısısında saklandı.

-Proteinaz K çözeltisi

- 50 µl 2M'lık Tris HCl ( pH= 7.5 ) ile 10 ml distile su karışımı kullanılarak 10 mg/ ml proteinaz K hazırlandı.

-Propanol

- Konsantre propanol

-%70'lik Etil alkol ( Etanol )

- %96'lık alkolden 100 ml alınıp üzerine 39.4 ml distile su kondu.

-Tris EDTA ( TE )

- Stok Tris EDTA'dan 1 ml alınıp üzeri distile su ile 100 ml'ye tamamlandı.

### **b.Tuz Yöntemi Kullanılarak DNA İzolasyonu**

- Çalışma grubu bireylerinden EDTA' lı tüplere 10 ml venöz kan alınıp buz dolabında ( +4° C ) bir gece bekletildi.
- Pastör pipeti ile üstte kalan sıvı ( plazma ) atıldı. Geride kalan kısmı polypropilen kapaklı tüpe boşaltılarak üzeri lizis buffer ile 50 ml' ye tamamlandı. 15 dakika bu üzerinde tutuldu.
- 2000 rpm ve +4°C'de 15 dakika santrifüj edildi. Süpernatant döküldü ve dipte kalan pelletin üzerine 15-20 ml lizis buffer ilave edildi.
- 2000 rpm ve +4°C'de 15 dakika santrifüj edildi ve süpernatant döküldü.
- Dibinde pellet olan tüplere 5 ml sodyum EDTA ( SE ) , 500 µl %10'luk sodyum dodasil sülfat ( SDS ) ve 100 µl proteinaz K ilave edilip vortekslendi.
- 37° C'lik su banyosunda 1 gece inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrası tüplere 2 ml sodyum klorür ( NaCl ) kondu ve elle iyice köpürene kadar karıştırıldı.
- 3500 rpm ve +4° C'de 20 dakika santrifüj edildi.
- Santrifüjden sonraki süpernatant başka bir poypropilen kapaklı tüpe aktarıldı ve tüpte bulunan hacim kadar 2- propanol ilave edildi. Böylece DNA gözle görülür hale geterildi.
- Bir çubuk yardımıyla tüp içerisinden alınan DNA, %70'lik alkol içerisinde yıkanarak ependorf tüpe kondu. Kurutmak amacı ile tüpün ağzı açık bırakıldı.
- Alkollü uçarak kuruyan DNA üzerine DNA miktarına göre 100-500 µl TRIS-EDTA ( TE ) kondu.
- 50° C'lik su banyosunda bir gece inkübe edildi.
- TRIS-EDTA içinde homojen hale gelen DNA, +4° C'de saklandı.

### **c. İzole Edilen DNA Miktarını Ölçümü**

- Elde edilen DNA'nın miktarı Optik Dansite değeri ölçülerek hesaplanır. [ 1 ml sıvıda belli dalga boyundaki ( DNA için 260 nm ) ışığa 1 cm yol aldırın madde miktarına ' 1 OD' denir. Çift iplikçik DNA için 50 µg, tek sarmal için 40 µg 'dır.]
- Spektrofotometrede DNA'ya bakabilmek için ependorf tüpüne 990 µl distile su veya TE Buffer + 10 µl DNA kondu. Tüpteki sıvının absorbanı 260 nm

dalga boyundaki spektrofotometrede blanka karşı okundu. Okunan OD absorbans değerine göre hesaplama aşağıdaki gibi yapıldı.

50µg DNA	1 OD
X	Okunan OD değer

---

$$X = \text{Okunan OD değeri} \times 50 \mu\text{g DNA}$$

### 3.4.2. İzole Edilen DNA Örneklerinin PCR ile Amplifikasyonu

#### a. Kullanılan Çözeltiler

Agaroz Jel Elektroforezi Çözeltileri:

-Etidium bromid ( 1 mg/ ml )

- Etidium bromidden 1 mg/ ml olacak şekilde distile su hazırlandı.

-10 X Tris Borat EDTA ( TBE ) Buffer

- Bir mezür içine 108 gr tris base, 50 gr borik asit ve 40 ml 0.5 m'lık EDTA (pH= 8) kondu.
- Distile su ile 1000 ml' ye tamamlandı.
- Manyetik karıştırıcıda karıştırıldı.

#### b. İşlemin Yapılışı

Araştırma grubu bireylerinden elde edilen DNA örneklerinin PCR ile amplifikasyonu için 50 µl'lik karışım hazırlanmıştır.

Primer 1	5 µl
Primer 2	5 µl
dNTP mix	5 µl
PCR buffer	5 µl
Tris- HCl	5 µl
KCl	5 µl
Taq pol	0.2 µl
H2O	19 µl
DNA	1 µl

**c. ACE, D ve I Alleli için Kullanılan Amplifikasyon Şartları**

94° C	5 dk		
92° C	40 sn denatürasyon		30 döngü
56° C	40 sn bağlanma		
72° C	40 sn uzama		
72° C	10 dk son bağlanma		
+4° C	bekleme olmak üzere amplifikasyon şartları düzenlendi.		

**d. ACE, D ve I Alleli için Kullanılan Primerler**

D alleli için kullanılan sense oligonükleotid primer ( ACE primeri 1 ) : 5' CTG CAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT 3' ; antisense oligonükleotid primer (ACE primeri 2 ) : 5' GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGA T 3 '

**e. ACE, I Alleli için Kullanılan Amplifikasyon Şartları**

94° C	5 dk		
92° C	40 sn denatürasyon		30 döngü
63° C	40 sn bağlanma		
72° C	40 sn uzama		
72° C	10 dk son bağlanma		
+4° C	bekleme		

**f. Sadece ACE, I Alleline Spesifik Olan Primerler**

I alleli için kullanılan spesifik insersiyon sense oligonükleotid primer ( ACEX primer 1 ) : 5' TGG GAC CAC AGC GCC CGC CAC TAC 3 ' antisense oligonükleotid primer ( ACEX primer 2 ): 5' TCG CCA GCC CTC CCA TGC CCA TAA 3'.

**3.4.3. Agaroz Jel Elektrofrez**

PCR sonrası oluşan ürünlerin incelenmesi için %2'lik agaroz jeli hazırlandı ve örnekler agaroz jel elektrofrez yöntemine tabi tutuldu.

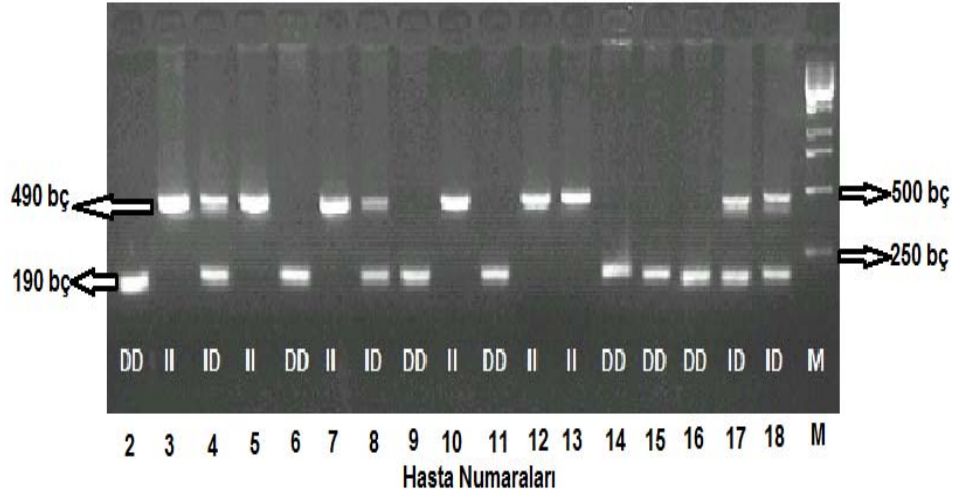
**a. %2' Lik Agaroz Jelin Hazırlanması:**

- 1.6 gr agaroz tartılıp bir beher içerisinde TBE buffer ile 80 ml'ye tamamlandı.
- Mikrodalga fırında kaynatıldı.

- Yaklaşık 60°'ye kadar soğutulduktan sonra üzerine 4 µl etidium bromid konup karıştırıldı.
- Elektroforez başlamadan önce tank, taraklar ve jel yatağı temizlendi.
- Tarak ve jel küveti tanka yerleştirildi. Hazırlanan jel küvete döküldü.
- Jel donduktan sonra üzeri 1 XTBE Buffer ile dolduruldu.
- 14 µl PCR ürünü alınıp 3 µl'lik loading buffer ile karıştırıldı ve jeldeki kuyucuklara yüklendi. ( Her jelin bir kuyusuna marker yüklendi. )
- Yükleme işlemi bittikten sonra elektrodlar yerleştirilerek 100 voltta yürütüldü.
- Elektroforez tamamlandıktan sonra jel, CCD kamera altında incelenerek fotoğrafı çekildi.

#### **b.Jelin CCD Kamera ile Değerlendirilmesi**

D alleli için, sense oligonükleotid primer " 5' CTG CAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT 3' " ile antisense oligonükleotid primer " 5' GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGA T 3' " ve sadece I alleleline spesifik sense oligonükleotid primer: 5' TGG GAC CAC AGC GCC CGC CAC TAC 3' antisense oligonükleotid primer: 5' TCG CCA GCC CTC CCA TGC CCA TAA 3' primerleri kullanılarak ACE geninin 16. intronundaki D ve I allellerini ortaya koymak amacıyla PCR yöntemi kullanılarak çoğaltılıp, PCR ürünleri agaroz jel elektroforezle ayrıldı ve etidium bromid ile boyanıp CCD kamera sistemi yardımıyla D ve I alleleri tanımlandı. Çalışmada yararlanılan kişilerde, 190 bç'lik fragment d allelini, 490 veya 335 bç'lik fragment ise I allelini tanımladı. Buna göre Şekil 5'de görüldüğü gibi sadece 190 bç'lik fragment bulunan kişilerde homozigot delesyon ( DD ) genotipi olduğu, sadece 490 bç'lik veya 335 bç'lik fragment bulunan kişilerde homozigot insersiyon ( II ) genotipli , her iki fragment ( 190 bç ile 490 bç veya 335 bç'lik fragmentler ) bulunan kişiler ise heterozigot ID genotipli olarak belirlendi.



Şekil 5. ACE geni primeri kullanılarak PCR ile amplifiye edilen hasta DNA'larının jel elektroforezdeki görünümü

### 3.5.Verilerin İstatistiksel Olarak Değerlendirilmesi

Sarkoidozlu hastalar ve sağlıklı kişilerdeki allel oranlarının ve genotip dağılımlarının karşılaştırılması ki-kare testi kullanılarak yapıldı. Yaş ve solunum fonksiyon testi parametreleri student-t testi ile karşılaştırıldı. Devamlı değişkenler ortalama±standart sapma (SD) olarak belirtildi. P değerinin 0.05'den küçük değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İstatistiksel değerlendirmesi için SPSS.13 programı kullanıldı.

## 4.BULGULAR

Bu çalışmada, sağlıklı gönüllüler ile sarkoidoz tanılı hastaların demografik özellikleri ile elde edilen ACE geni I/D polimorfizmi bulguları karşılaştırılmıştır.

### 4.1.Hastaların Demografik Özellikleri

Sarkoidoz tanılı olgularımızın 18'ini ( % 26 ) erkek, 52'sini ( % 74 ) kadın hastalar oluşturmuştur. Hastalarımızın yaş ortalaması  $51.6 \pm 11.3$  olarak saptanmıştır.

Solunum fonksiyon testi (SFT) ile olguların 33'ünde ( % 47) solunum fonksiyon bozukluğu tespit edilmiştir; % 2.8 oranında obstruksiyon, % 44.2 oranında restriksiyon bulgusu saptanmıştır. Difüzyon bozukluğu olguların 15'inde ( % 21) tespit edilmiştir. Beklenen değer yüzdesi şeklinde kaydedilen DLCO ortalaması  $77.5 \pm 22$  iken DLCO/Va ortalaması,  $121.2 \pm 47.2$  olarak tespit edilmiştir.

Kontrol grubu bireylerinin yaş ortalaması  $49.7 \pm 15.8$  olarak saptanmıştır. Bu grubun 40'ını ( % 47) erkek, 45'ini ( % 53) kadınlı bireyler oluşturmuştur. Bu bireylerin hiçbirinde kronik hastalık veya solunum fonksiyon bozukluğuna neden olabilecek solunum sistem hastalığı öyküsü saptanmamıştır (Tablo 3).

Tablo 3. Olguların demografik özellikleri ve SFT bulguları

Hastalar	Yaş	Cinsiyet K/E	Beklenen %FEV1	Beklenen %FVC	FEV1%	DLco
Sarkoidoz	$51.6 \pm 11.3$	52/ 18	$76.6 \pm 19.9$	$74.5 \pm 18.6$	$87.4 \pm 8.5$	$77.5 \pm 22$
Kontrol	$49.7 \pm 15.8$	45/40	$92.2 \pm 2.3$			

### 4.2.ACE Geni I/D Polimorfizminin Genotip ve Allellerinin Frekansı

ACE geni 16. intronunda yer alan insersiyon/delesyon polimorfizminden dolayı, kontrol grubu bireylerinde homozigot DD, homozigot II ve heterozigot ID olmak üzere 3 genotip mevcuttur.

Yaptığımız bu çalışmaya göre ACE genotipleri ile bunların frekansları Tablo 4' de verildi. Tablo 4'de de görüldüğü gibi sağlıklı kontrol bireylerinde I allel frekansı %53, D alleli frekansı ise %47 olarak belirlendi. Sağlıklı kontrol grubu

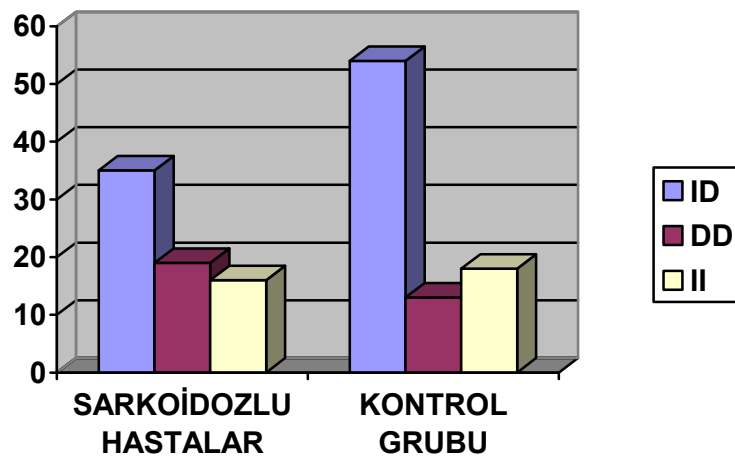


bireylerindeki ( n: 85 ) genotiplere baktığımızda II genotipine sahip birey sayısı 18 (%21.2), ID genotipine sahip birey sayısı 54 ( %63.5 )DD genotipine sahip birey sayısı ise 13 ( %15.3 ) olarak bulundu ( tablo 4 ) ( şekil 5 ).

Sarkoidozlu hastalarda ise (n: 70 ) I allel frekansı %48, D allel frekansı ise %52 olarak belirlendi. Sarkoidozlu bireylerde genotip dağılımı ise; II genotipine sahip birey sayısı 16 ( %22.9), ID genotipine sahip birey sayısı 35 ( % 50 ), DD genotipine sahip birey sayısı ise 19 ( % 27.1 ) olarak bulundu (Tablo 4) (Şekil 5).

Tablo 4. Olguların genotip ve allel dağılımları

GRUP	N	GENOTİPLER			ALLELLER
		ID (%)	DD (%)	II (%)	I/D (%)
SARKOİDOZ	70	35 (%50)	19 (%27.1)	16 (%22.9)	48/52
KONTROL	85	54 (%63.5)	13 (%15.3)	18 (%21.2)	53/47



Şekil 5. Olguların genotip dağılımı

## 5.TARTIŞMA

Sarkoidoz, nedeni bilinmeyen, başlıca akciğerleri ve intratorasik lenf nodlarını tutan multisistemik granülamatöz bir hastalıktır (1). Sarkoidoz tüm etnik gruplarda görülebilir ve her yaş grubunda ortaya çıkabilir. 20- 39 yaşları arasında insidansı pik yapar ve sıklıkla 50 yaş öncesinde gelişir (2). İnsidansı çevresel faktörler, sürveliyans çalışmaları, predizpozan HLA allelleri ve diğer genetik faktörlerdeki farklılıklar nedeniyle dünyada değişkenlik gösterir.

Sarkoidozun nedenleri hala bilinmemektedir. Genetik yatkınlığı olan bireylerde henüz bilmediğimiz etkenler ile karşılaşma sonucunda oluştuğu kabul edilmektedir (4). Sarkoidozda ailesel yatkınlık bilinmektedir. ACCESS ile sarkoidozlu olguların birinci ve ikinci derece akrabalarında, kontrol grubunun yakınlarına göre sarkoidoz riskinin anlamlı olarak yüksek olduğu gösterilmiştir. Sarkoidoz görülme sıklığı ırklara göre değişmektedir. Bu veriler sarkoidoz gelişiminde genetiğin katkısını desteklemektedir (7).

Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim (ACE) ; böbrek proksimal tübül epitelinde ve akciğerin endotel hücrelerinde bulunan bir metalloproteinazdır. ACE' nin sarkoid granülomlarındaki epiteloïd hücrelerden üretildiğine dair kanıt elde edildiğinden ve sarkoidozlu hastalarda serum ACE düzeyinin yüksek olduğu bulunduğundan beri serum ACE seviyesinin sarkoidoz aktivitesi, duyarlılığı ve prognozunu gösteren bir belirteç olduğu düşünülmektedir (8,9).

Sarkoidozlu hastalardan elde edilen T lenfositlerle monosit hücre kültüründe ACE sentezi daha önce gösterilmiştir. Serum ACE seviyesinin vücuttaki tüm granülom kitlesini yansıttığına inanılır. Enzim aktivitesinin, ACE geninin 16. intronunda lokalize olmuş insersiyon/ delesyon polimorfizmiyle ilgili olduğu tespit edilmiştir. I/D polimorfizminde, homozigot delesyon DD, homozigot insersiyon II, ve heterozigot ID olmak üzere üç tip genotip belirlenmiştir. D alleli varlığı hem genel popülasyonda hem de sarkoidozlu hastalarda daha fazla ACE üretimi ile ilişkili bulunmuştur. Bütün bu bulgular ACE polimorfizminin sarkoidoz etyolojisi ve patogenezi üzerinde etkisi olduğu düşüncesine yol açmıştır (12,13).

Sarkoidozlu hastalarda ACE gen polimorfizmi ile sarkoidoz sıklığı arasındaki ilişkiyi araştırmak üzere yaptığımız çalışmada; sağlıklı bireyler ile sarkoidoz tanılı olguların verileri karşılaştırıldı.

Olguların DD polimorfizmi sıklığına bakıldı. Sarkoidoz tanılı 70 hastanın 19'unda (%27,1), kontrol grubundaki 85 sağlıklı gönüllünün 13'ünde (%15.3) DD polimorfizmi saptandı. Kontrol grubu ve sarkoidoz tanılı hastalar karşılaştırıldığında DD polimorfizminin görülme sıklığı arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $\chi^2= 3.45$ ,  $p=0.07$ ).

ID polimorfizmi sıklığına bakıldığında ise; sarkoidoz tanılı 70 hastanın 35'inde (%50), kontrol grubundaki 85 sağlıklı gönüllünün 54'ünde (%63.5) ID polimorfizmi saptandı.. Kontrol grubu ve sarkoidoz tanılı hastalar karşılaştırıldığında ID polimorfizminin görülme sıklığı arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $\chi^2= 3.16$ ,  $p=0.075$ ).

II polimorfizmi değerlendirildiğinde ise sarkoidoz tanılı 70 hastanın 16'inde (%22.9), kontrol grubundaki 85 sağlıklı gönüllünün 16'sinde (%23.2) II polimorfizmi saptandı.. Kontrol grubu ve sarkoidoz tanılı hastalar karşılaştırıldığında II polimorfizminin görülme sıklığı arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $\chi^2= 0.09$ ,  $p=0.84$ ).

Geçmiş dönemde de sarkoidoz ile ACE- gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar yapılmış ve ırklara göre farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Maliarik ve arkadaşlarının Afro-Amerikanlar ve Kafkasyalılar üzerinde yaptıkları bir çalışmada ; 60 Kafkasyalı sarkoidoz tanılı olgu ile 48 sağlıklı gönüllü birey arasında ACE genotipinde anlamlı farklılık gözlenmezken, 183 sarkoidoz tanılı Afro-Amerikan ve 111 kontrol grubu arasında genotipik dağılımda anlamlı fark saptanmıştır. Afro-Amerikalarda sarkoidoz riski ID genotipinde 1.30 kat artar iken, DD genotipinde 3.17 kat artmış olarak saptanmıştır. Pozitif aile hikayesi olanlarda DD genotipiyle hastalık riski anlamlı olarak artmış bulunmuştur. Analizlerde ACE genotipiyle hastalığın ağırlığı, ekstratorasik tutulum ve tanı sonrası 2-4 yıllık takipte radyolojik değişikliklerde anlamlı farklılık saptanmamıştır. II genotipiyle radyolojik progresyon arasında orta derecede ilişki saptanmıştır (  $OR=2.97$  ) . Sonuç olarak bu çalışmada; Kafkasyalılarda ACE gen I/D polimorfizmi ile sarkoidoz duyarlılığı ve progresyonu arasında ilişki saptanmazken, Afro-Amerikalarda ACE genotipinin sarkoidoz duyarlılığını ve hastalık progresyonunu etkilediği sonucuna varılmıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar birçok çalışmaya yön vermiştir (12).

McGrath ve arkadaşlarının İngilizler ve Çekoslavakyalı sarkoidoz tanılı hastalar üzerinde yaptıkları çalışmada; ACE genotipi ile hastalık duyarlılığı,

hastalığın ağırlığı ve hastalık progresyonu ilişkisi araştırılmıştır. Standart akciğer grafisi ve solunum fonksiyon testleri yapılmış ve olgular, hastalık ağırlığına göre sınıflandırılmıştır. Her hastaya PCR ile ACE genotipi çalışılmış ve hastaların verileri kontrol gruplarıyla karşılaştırılmıştır. ACE genotipinin dağılımı ile hastalığın görülme sıklığı, hastalığın ağırlığı ve progresyonu arasında ilişki saptanmazken benzer olarak sarkoidoz tanılı olgular ile kontrol grupları arasında da allel ve fenotiplerin dağılımı farklılık göstermemiştir. Sonuç olarak bu çalışmada; farklı Avrupa ırklarında ACE gen I/D polimorfizminin hastalık duyarlılığı ile ilişkili olmadığı kanısına varılmıştır (62).

Hatemi ve arkadaşlarının Türkiye popülasyonunun da yaptıkları 48 sarkoidoz tanılı olgu ile kontrol grubunu karşılaştırdıkları çalışmada; ACE gen polimorfizmi sıklığı sarkoidoz tanılı olgular ile kontrol grubunda farklı bulunmamıştır. Serum ACE seviyesi ile ACE gen polimorfizmi arasında da ilişki saptanmamış, dolayısıyla ACE gen I/D polimorfizminin sarkoidozlu hastalarda belirteç olarak kullanılabileceği önerisi bu çalışmada desteklenmemiştir.

Alia ve arkadaşlarının çalışmasında da; 177 İspanyol sarkoidoz tanılı hasta ile 104 sağlıklı gönüllünün ACE gen I/D polimorfizmi ve serum ACE seviyeleri verileri karşılaştırılmıştır. Hastalarla sağlıklı gönüllüler arasında genotip dağılımında anlamlı farklılık saptanmazken, genotipin hastalığın ortaya çıkış şekli, ve hastalığın seyri üzerine de etkili olmadığı saptanmıştır. Serum ACE seviyesi ise hem sarkoidoz hastaları hem de sağlıklı gönüllülerde, diğer çalışmalarla benzer DD> ID> II olarak saptanmıştır. Sonuç olarak; ACE gen I/D polimorfizminin sarkoidoz duyarlılığını etkilemediği, ancak ACE genotipinin ACE seviyesini etkileyerek hastalığın aktivitesinin belirlenmede önemli bir rolü olduğu kabul edilmiştir (63).

Fruya ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; 59 Finlandiyalı sarkoidoz tanılı olgu ile 70 sağlıklı gönüllü birey karşılaştırılmış. DD, ID ve II genotipleri sarkoidoz tanılı olgularda %31, %27 ve %54 olarak saptanırken kontrol grubunda %49, %15 ve %24 olarak saptanmıştır. D alleli hem sarkoidoz tanılı olgularda hem de kontrol grubu bireylerinde daha sık bulunmuş ancak istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. DD genotipli hastalar II ve ID genotipe sahip hastalarla karşılaştırıldığında, DD genotipi kötü prognozla istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Sonuç olarak bu çalışmada; anjiyotensin konverting enzimin

sarkoidozda prognostik belirteç olarak kullanılabilceği ancak bu konuda daha geniş çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmüştür (11).

Papadopoulos ve arkadaşlarının çalışmasında ise; sarkoidoz tanılı olgular otoimmün hastalığın olup- olmamasına göre gruplandırılmışlar. Diğer çalışmalarda benzer olarak, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sarkoidozlu hastalarda serum ACE seviyesi yüksek saptanmıştır. Serum ACE seviyesi polimorfizm ilişkisi değerlendirildiğinde yine önceki çalışmalarda benzer DD> ID> II sonuçlar elde edilmiştir. Diğer çalışmalardan farklı olarak, otoimmün hastalığı da olan sarkoidozlu vakalarda ise serum ACE seviyesi daha yüksek bulunmuştur. DD genotipi, otoimmün hastalığı olanlarda ve evre 3 sarkoidoz olgularında daha sık saptanmış ve bu bulgu ile ACE gen polimorfizminin sarkoidozda otoimmün hastalıkla ilişkili olabileceği düşünülmüştür (64).

Sharma ve arkadaşlarının Hintli sarkoidoz tanılı olgularla yaptıkları çalışmada; 72 sarkoidozlu olgu, 199 kontrol grubu bireyinde ACE genotipi çalışılmış. Kontrol grubunda I/D: 0.6/0.4 iken sarkoidoz tanılı olgularda I/D: 0.35/0.65 olarak saptanmıştır. D alleli (DD+ID) saptananlarda sarkoidoz gelişme riski 9 kat artarken, II polimorfizmi olanlarda 5.5 kat artmış olarak saptanmıştır. Polimorfizme göre steroid yanıt ilişkisi değerlendirilmiş; II polimorfizmde 6 hastanın 6'sında steroide yanıt alınırken, ID polimorfizmi olanların 37'sinin 32'sinde ve DD genotipi olanların 25'inin 16'sında steroid tedavisine yanıt alınmıştır. Sonuç olarak bu çalışmada; Hintlilerde D alleli artmış sarkoidoz gelişme riski ve kortikosteroidlere kötü yanıtla ilişkili bulunmuştur (65).

Tomita ve arkadaşlarının 207 Japon sarkoidoz tanılı olgu ile 314 sağlıklı gönüllü birey üzerinde yaptıkları çalışmada; ACE genotip dağılımı arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Diğer çalışmalardan farklı olarak ACE gen polimorfizmi ve organ tutulum ilişkisine bakıldığında ise bu üç genotip ile organ tutulumu arasında anlamlı varyasyon bulunmamıştır. Polimorfizmin prognostik etkisini değerlendirmek üzere 3 ve 5. yıllarda çekilen akciğer garfileriyle yapılan değerlendirmede de , istatistiksel olarak anlamlı farklılık elde edilmemiştir. Sonuçta; önceki çalışmalarda benzer olarak ACE gen polimorfizminin sarkoidoz insidansı, hastalığın ağırlığı ve prognozu üzerine anlamlı etkisi olmadığı kabul edilmiştir (13).

Sarkoidozun potansiyel risk faktörlerini belirlemek, küçük örnek grupları ve yanlış pozitif ve negatif bulgular nedeniyle ortaya çıkan kısıtlılıklardan kaçınmak

için yapılan bir metaanalizde; sadece ACE gen polimorfizmi ve TNF-alfa genindeki tek polimorfizmi araştıran çalışmalar derlenmiştir. ACE gen polimorfizmini araştıran 17 çalışmanın, intron 16 daki insersiyon delesyon polimorfizmini belirleyen 12 'si metaanalize dahil edilmiştir. ACE gen polimorfizmini değerlendiren bu 12 çalışmanın analizlerine göre; toplam 1392 hasta, 2147 kontrolden oluşan 14 farklı etnik grup değerlendirilmiştir. Metaanalizin sonunda ACE genindeki ID polimorfizmi ile sarkoidoz ilişkisi resesif ve dominant genetik modelde de anlamlı saptanmamıştır. Çalışmaların hastalık riski değerlendirmesinde delesyon allelini homozigot taşıyanlarda sarkoidoz riskinin hafif (%20) arttırdığı, ancak istatistiksel olarak anlamlı olmadığı, aynı sonuçların delesyon allelerini homozigot ve heterozigot taşıyanların kombinasyonundan da elde edildiği tespit edilmiştir. Polimorfizmin Japon kadınlarda sarkoidoz patogenezinde etkili olduğu, Finlandiyalılarda prognozu kötüleştirdiği bulunmuş ve bu durumun ailesel olgularda daha belirgin olduğu saptanmıştır. Sadece Afro- Amerikanlarda ACE gen polimorfizminin hastalık gelişimi ile ilişkisi anlamlı bulunmuştur (66).

Bütün bu bulgular ACE polimorfizminin sarkoidoz etyolojisi ve patogenezi üzerinde etkisi olduğu düşüncesine yol açmıştır. Ancak ne bu çalışmalar ( Afro- Amerikanlar üzerinde yapılan çalışma hariç) ne de bizim çalışma sonuçlarımız bu düşünceyi desteklememektedir. Bununla birlikte ACE genotipi ACE serum seviyesini etkilemektedir ve bu durum sarkoidoz aktivitesinin belirlenmesi ve sarkoidozun tanısal değerlendirmesinde sACE'nin önemini artırmaktadır.

Çalışmanın kısıtlılıkları;

- Bu çalışmada bazı olguların verilerine ulaşamadı. Sonuçta bu olgularda hastalığın evresi, ortaya çıkış şekli belirlenemedi.
- Olguların serum ACE düzeylerine bakılamadı.
- Kesitsel bir çalışma olması nedeniyle olguların uzun dönem prognoz tayini, tedaviye yanıtları ve nüks sıklıkları değerlendirilemedi.

## 6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma; Türk popülasyonunda sarkoidoz tanılı hastalarda ACE gen polimorfizmi sıklığını belirlemek ve hastalık ile ACE gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi tespit etmek amacıyla yapıldı.

Bu amaçla sağlıklı gönüllüler ile sarkoidoz tanılı hastaların demografik özellikleri ile elde edilen ACE geni I/D polimorfizmi bulguları karşılaştırıldı.

Sarkoidoz tanılı hastaların % 27,1'inde, kontrol grubundaki olguların % 15.3'ünde DD polimorfizmi saptandı. ID polimorfizmi sıklığına bakıldığında ise; sarkoidoz tanılı hastaların %50'sinde, kontrol grubundaki olguların % 63.5'inde ID polimorfizmi saptandı. II polimorfizmi değerlendirildiğinde ise sarkoidoz tanılı hastaların % 22.9'unda, kontrol grubundaki olguların % 21.2'sinde II polimorfizmi saptandı. Kontrol grubu ve sarkoidoz tanılı hastalar karşılaştırıldığında DD, ID ve II polimorfizminin görülme sıklığı arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

Tüm bu bulgular ışığında, Türk popülasyonunda ACE gen polimorfizmi ile sarkoidoz hastalığı arasında bir ilişki olmadığı tespit edilmiştir.

## KAYNAKLAR

1. Michael CI, Benjamin A, Rybicki BA ve ark. Sarcoidosis. *N Engl J Med* 2007; 357: 2153-65.
2. Rybicki BA, Major M, Popovich J ve ark. Racial differences in sarcoidosis incidence: a 5-year study in a health maintenance organization. *Am J Epidemiol* 1997; 145: 234-41.
3. Musellim B, Kumbasar OO, Ongen G ve ark. Epidemiological features of Turkish patients with sarcoidosis. *Respir Med* 2009; 103: 907-12.
4. Brewerton DA, Cockburn C, James DC ve ark. HLA antigens in sarcoidosis. *Clin Exp Immunol* 1977; 27: 227-9.
5. Rossman MD, Thompson B, Frederick M ve ark. HLA-DRB1\*1101: a significant risk factor for sarcoidosis in blacks and whites. *Am J Hum Genet* 2003; 73: 720-35.
6. Iannuzzi MC, Maliarik MJ, Poisson LM ve ark. Sarcoidosis susceptibility and resistance HLA-DQB1 alleles in African-Americans. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 1225-31.
7. Robert PB, Alvin ST, Marc AJ ve ark. A case control etiologic study of sarcoidosis (ACCESS) research group. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 1885–1889.
8. Arbustini E, Grasso M, Leo G ve ark. Polymorphism of Angiotensin converting enzyme gene and sarcoidosis. *Am. J. Respir Crit Care Med* 1996; 153: 851-854.
9. Mattei MG, Hubert C, Alhenc- Gelas ve ark. Angiotensin-I converting enzyme gene is on chromosome 17. *Cytogenet. Cell Genet* 1999; 51: 1041.
10. Benessiano J, Crestani B, Miestari F ve ark. High frequency a deletion polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99: 53-57.



11. Furuya K, Yamaguchi E, Itoh A ve ark. Deletion polymorphism in the angiotensin I converting enzyme (ACE) gene as a genetic risk factor for sarcoidosis. *Thorax* 1996; 51: 777–780.
12. Maliarik MJ, Rybicki BA, Malvitz E ve ark. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and risk of sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 1566–1570.
13. Tomita H, Ina Y, Sugiura Y ve ark. Polymorphism in the angiotensin converting enzyme (ACE) gene and sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 255–259.
14. American Thoracic Society /European Respiratory Society. Joint statement of the and the world association of sarcoidosis and other granulomatous disorders (WASOG). *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 736–755.
15. James DG, Turiaf J, Hosoda Y ve ark. Description of sarcoidosis: Report of the subcommittee on classification and definition. *Ann N Y Acad Sci* 1976; 278: 742.
16. Koseki Y, Terai C, Nakajima H ve ark. A patient with acute sarcoidosis associated with fever, polyarthritis, and erythema nodosum: a typical of Lofgren's syndrome. *Ryumachi* 1998; 38: 23–28.
17. Grutters JC, Sato H, Welsh KI ve ark. The importance of sarcoidosis genotype to lung phenotype. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003; 29: 59–62.
18. Sverrild A, Backer V, Kyvik KO ve ark. Heredity in sarcoidosis: a registry-based twin study. *Thorax* 2008; 63: 894–896.
19. Schurmann M, Reichel P, Muller-Myhsok B ve ark. Results from a genome-wide search for predisposing genes in sarcoidosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 840–846.
20. Sato H, Grutters JC, Pantelidis P ve ark. HLA-DQB1\*0201: a marker for good prognosis in British and Dutch patients with sarcoidosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2002; 27: 406–412.

21. Voortter CE, Drent M, van den Berg-Loonen EM. Severe pulmonary sarcoidosis is strongly associated with the haplotype HLA-DQB1\*0602-DRB1\*150101. *Hum Immunol* 2005; 66: 826–835.
22. Valentonyte R, Hampe J, Huse K ve ark. Sarcoidosis is associated with a truncating splice site mutation in BTNL2. *Nat Genet* 2005; 37: 357–364.
23. McGrath DS, Goh N, Foley PJ ve ark. Sarcoidosis: genes and microbes – soil or seed? *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 2001; 18: 149–164.
24. Baughman RP, Lower EE, du Bois RM. Sarcoidosis. *Lancet* 2003; 361: 1111–1118.
25. Nilsson K, Pahlson C, Lukinius A ve ark. Presence of *Rickettsia helvetica* in granulomatous tissue from patients with sarcoidosis. *J Infect Dis* 2002; 185: 1128–1138.
26. Rafnsson V, Ingimarsson O, Hjalmarsson I ve ark. Association between exposure to crystalline silica and risk of sarcoidosis. *Occup Environ Med* 1998; 55: 657–660.
27. Drent M, Bomans PH, Van Suylen RJ ve ark. Association of man-made mineral fibre exposure and sarcoidlike granulomas. *Respir Med* 2000; 94: 815–820.
28. Newman LS. Aetiologies of sarcoidosis. *Eur Respir Mon* 2005; 32: 23–48.
29. Song Z, Marzilli L, Greenlee BM ve ark. Mycobacterial catalase-peroxidase is a tissue antigen and target of the adaptive immune response in systemic sarcoidosis. *J Exp Med* 2005; 201: 755–767.
30. Moller DE, Chen ES. What causes sarkoidosis. *Curr Opin Pulm Med* 2002; 8: 429-34.
31. Gupta D, Agarwal R, Aggarwal AN ve ark. Molecular evidence for the role of mycobacteria in sarcoidosis: a meta-analysis. *Eur Respir J* 2007; 30: 508–516.
32. Celik G, Sen E, Ulger ve ark. Sarcoidosis caused by interferon therapy. *Respirology* 2005; 10: 535-40.

33. Verschueren K, Essche EV, Verschueren P ve ark. Development of sarcoidosis in etanercept treated rheumatoid arthritis patients. *Clin Rheumatol* 2007; 26: 1969-71.
34. O'Shea FD, Marras TK, Inman RD. Pulmonary sarcoidosis developing during infliximab therapy. *Arthritis Rheumatism* 2006; 55: 978-81.
35. Almodovar R, Izquierdo M, Zarco P ve ark. Pulmonary sarcoidosis in a patient with ankylosing spondylitis treated with infliximab. *Clin Exp Rheumatol* 2007; 25: 35-9.
36. Massara A, Cavazzini L, La Corte R ve ark. Sarcoidosis appearing during anti-tumor necrosis factor therapy. *Semin Arthritis and Rheum* 2009; 10: 1016.
37. Agostini C, Adomi F, Semenzato G. New pathogenetic insights to the sarcoid granüloma. *Curr Opin Rheumatol* 2000; 12: 71-6.
38. Agostini C, Meneghin A, Semenzato G. T lymphocytes and cytokines in sarcoidosis. *Curr Opin Pulm Med* 2002; 8: 435-40.
39. Gurrieri C, Bortoli M, Brunetta E ve ark. Cytokines, chemokines and other biomolecular markers in sarcoidosis. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 2005; 22: 9-14.
40. Stridh H, Planck A, Gigliotti D ve ark. Apoptosis resistant bronchoalveolar lavage (BAL) fluid lymphocytes in sarcoidosis. *Thorax* 2002; 57: 897-901.
41. Ozdemir KO, Celik G, Davla K, Ulger F ve ark. High CD95 expression of BAL lymphocytes predicts chronic course in patients with sarcoidosis. *Respirology* 2007; 12: 869- 73.
42. Kumar V, Cotran R, Robbins R. *Temel Patoloji. Çeviri Çelikbaş U. 2. Baskı İstanbul Nobel Tıp* 1995; 40-45: 403-405.
43. Newman LS, Rose CS, Maier LA. Sarcoidosis. *New Engl J Med* 1997; 24: 1224-1234.
44. Hunnighake GW, Costabel U, Ando M ATS/ ERS WASOG statement on sarcoidosis. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 1999; 16: 149-173.

45. Moller RB: Pulmonary Disease and Disorders. İçerik: Systemic Sarcoidosis. Fishman AP (ed.). New York: McGraw-Hill; 2010; 1(69): 1055-1068.
46. Judson MA. The diagnosis of sarcoidosis. Clin Chest Med 2008; 29: 415-27.
47. Costabel U, Ohshimo S, Guzman J. Diagnosis of sarcoidosis. Curr Opin Pulm Med 2008; 14: 455-61.
48. Mihailovic-Vucunic V, Jovanovic D. Pulmonary Sarcoidosis. Clin Chest Med 2007; 29: 459-73.
49. Baughman RP, Lower EE. Therapy for sarcoidosis. Eur Respir Mon 2005; 32: 301-15.
50. Gottlieb JE, Israel HL, Steiner RM ve ark. Outcome in sarcoidosis. The relationship of relapse to corticosteroid therapy. Chest 1997; 111: 623-31.
51. Bradley B, Branley HM, Egan JJ ve ark. Interstitial lung disease guideline: the British Thoracic Society in collaboration with the Thoracic Society of Australia and New Zealand and the Irish Thoracic Society. Thorax 2008; 63:1-58.
52. Doğanay A, Kumbasar ÖÖ. Güncel Bilgiler Işığında Sarkoidoz. Türk Tüberküloz ve Toraks Derneği Yayını, 2004; 61: 8-17.
53. Paramothayan S, Lasserson TJ, Walters EH. Immunosuppressive and cytotoxic therapy for pulmonary sarcoidosis. Cochrane Database Syst Rev 2003; 3: 35-36.
54. Judson MA. Sarcoidosis Clinical Presentation, diagnosis and approach to treatment. Am J Med Sci 2008; 335: 26-33.
55. Bachelez H. The use of Tetracyclines for Treatment of Sarcoidosis. Arch Dermatol 2001 ; 137 : 69-73.
56. Baughman RP, Winget DB, Lower EE. Methotrexate is steroid sparing agent in acute sarcoidosis: Results of a double blind, randomized trial. Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis 2000; 17: 60-6.
57. Wyser CP, van Schalkwyk EM, Alheit B. Treatment of progressive pulmonary sarcoidosis with cyclosporin A. Am J Respir Crit Care Med

- 1997; 156: 1371-6.
58. Ehlers MRW, Riordan JF. Angiotensin convertig enzyme: new concepts its biological role, biochemistry 1989; 28: 5311-5318.
  59. Hooper NM, Keen J, Pappin DJC. Angiotensin converting enzyme. Biochem. J. 1987; 247: 85-93.
  60. Ganong W.F.: Ganong Tıbbi Fizyoloji, Çeviri Dođan A. İstanbul Barış Kitabevi, 1995: 496-500.
  61. Urhan M, Deđirmenci İ, Harmancı E ve ark. High frequency of DD polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene in Turkish asthmatic patients. Allergy and Asthma Proc. 2004; 25: 243-247.
  62. McGrath DS, Foley PJ, Petrek M ve ark. ACE gene I/D polymorphism and sarcoidosis pulmonary disease severity. Am J Respir Crit Care Med 2001; 164: 197–201.
  63. Alia P, Mana J, Capdevila O, Alvarez A ve ark. Association between ACE gene I/D polymorphism and clinical presentation and prognosis of sarcoidosis. Scand J Clin Lab Invest 2005; 65: 691–697.
  64. Papadopoulos KI, Melander O, Orho-Melander M ve ark. Angiotensin converting enzyme (ACE) gene polymorphism in sarcoidosis in relation to associated autoimmune diseases. J Intern Med 2000; 24: 71–77.
  65. Sharma OP, Said A. Diagnosis, pathogenesis, and treatment of sarcoidosis. Curr Opin Respir Med 1995; 1: 392–400.
  66. Medica I, Kastrin A, Maver A ve ark. Role of genetic polymorphisms in ACE and TNF-*a* gene in sarcoidosis: a meta-analysis. J Hum Genet 2007; 52: 836–847.

