



T.C.

SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**OBSTRÜKTİF UYKU APNE SENDROMLU HASTALARDA  
HLA-DR ALLEL VE ANTİJENİ İLE İMMÜN SİSTEM  
ELEMENLARININ ARAŞTIRILMASI**

**Muhammet Yusuf TEPEBAŞI**

**TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Nilüfer ŞAHİN CALAPOĞLU**

**Bu Tez Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri  
Koordinasyon Birimi tarafından 4846-D2-17 proje numarası ile desteklenmiştir**

**Tez. No: 172**

**ISPARTA-2018**

## KABUL ve ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğüne;

Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı Çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 26/06/2018

Tez Danışman : Prof. Dr. Nilüfer ŞAHİN CALAPOĞLU  
Süleyman Demirel Üniversitesi,  
Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Isparta

Üye : Prof. Dr. Fahri UÇAR  
Akdeniz Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji AD, Antalya

Üye : Doç. Dr. Ayşe Gül MUTLU GÜLMEMİŞ  
Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Moleküler Hücre  
Biyolojisi AD, Burdur

Üye : Doç. Dr. Önder ÖZTÜRK  
Süleyman Demirel Üniversitesi,  
Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları AD, Isparta

Üye : Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR  
Süleyman Demirel Üniversitesi,  
Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji AD, Isparta

ONAY: Bu doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Mustafa KAYAN

Enstitü Müdürü

## BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

### BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurullar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

“Obstrüktif Uyku Apne Sendromlu Hastalarda HLA-DR Allel ve Antijeni ile İmmün Sistem Elemanlarının Araştırılması” adlı Doktora tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan

Muhammet Yusuf TEPEBAŞI

İmza

Danışman

Prof. Dr. Nilüfer ŞAHİN CALAPOĞLU

İmza

## ÖNSÖZ

Doktora eğitimim boyunca bana her zaman destek olan değerli hocam ve tez danışmanım; Prof. Dr. Nilüfer ŞAHİN CALAPOĞLU'na,

Görüşleri ile her zaman yol gösteren değerli hocam ve anabilim dalı başkanımız; Prof. Dr. Nurten ÖZÇELİK'e,

Tezimin tüm aşamalarında değerli görüş ve fikirlerine başvurduğum Doktora Tez İzleme Komitesi Üyeleri Hocalarım; Doç. Dr. Pınar ASLAN KOŞAR ve Doç. Dr. Önder ÖZTÜRK'e,

Tezimin laboratuvar aşamalarında destekleriyle her zaman yanımda olan Hakan DOĞANGÖNÜL ve Okan SANCER'e,

Tezimin tüm aşamalarında bana destek olan, Tıbbi Biyoloji ve Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı çalışma arkadaşlarıma,

Tez projeme maddi destek sağlayan Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Hayatımda sevgi ve destekleri ile her zaman yanımda olan ve beni yetiştiren sevgili aileme ve eşim Gülsüm YAVUZ TEPEBAŞI'na

Sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunuyorum.

**Isparta, 2018**

## İÇİNDEKİLER

<b>KABUL ve ONAY SAYFASI</b> .....	<b>ii</b>
<b>BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK</b> .....	<b>iii</b>
<b>BEYAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>iv</b>
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	<b>x</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>xi</b>
<b>RESİMLER DİZİNİ</b> .....	<b>xii</b>
<b>GRAFİKLER DİZİNİ</b> .....	<b>xiii</b>
<b>1.GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1. Uyku ve Uyku Bozuklukları.....	3
2.1.1. Uyku Bozukluklarıyla İlgili Genel Tanımlar.....	4
2.2. Obstrüktif Uyku Apne Sendromu (OSAS).....	5
2.2.1. Tanımı.....	5
2.2.2. Polisomnografi.....	5
2.2.3. OSAS Semptomları .....	5
2.2.3.1. Horlama.....	6
2.2.3.2. Tanıklı apne.....	6
2.2.3.3. Gündüz aşırı uykululuk hali .....	6
2.2.3.4. Kardiyopulmoner semptomlar .....	6
2.2.3.5. Nöropsikiyatrik semptomlar.....	7
2.2.4. Tarihçe .....	7
2.2.5. Prevalans .....	8
2.2.6. Patofizyoloji.....	8
2.2.7. OSAS Hastalığında Risk Faktörleri.....	8
2.2.7.1. Genel Faktörler.....	8
2.2.7.1.1. Yaş.....	8
2.2.7.1.2. Cinsiyet.....	9
2.2.7.1.2. Obezite.....	9

2.2.7.1.3. Alkol ve Sigara .....	9
2.2.7.1.4. Etnik Köken.....	9
2.2.7.1.5. Ailesel ve Genetik Yatkınlık .....	10
2.2.7.2. Mekanik Faktörler.....	10
2.2.8. OSAS'ın Sonuçları .....	10
2.2.8.1. Hipertansiyon .....	10
2.2.8.2. Kalp yetmezliği .....	11
2.2.8.3. Serebrovasküler Hastalık .....	11
2.2.8.4. Aritmiler.....	11
2.2.8.5. İnsülin Rezistansı .....	11
2.2.8.6. OSAS'ın Nörodejeneratif Etkileri.....	11
2.2.8.7. Ani Ölüm.....	12
2.2.8.8. Sosyoekonomik Sonuçlar.....	12
2.2.9. OSAS Hastalığının Tedavisi.....	12
2.2.10. OSAS ve İmmün Sistem.....	12
2.2. Human Lökosit Antijen (HLA) .....	13
2.2.1. HLA Terminolojisi .....	13
2.2.2. HLA'nın Moleküler yapısı ve Antijen Sunumu .....	14
2.2.2.1. HLA sınıf I.....	15
2.2.2.1.1. Yapısı.....	15
2.2.2.1.2. Antijen Sunumu.....	16
2.2.2.1.3. HLA Sınıf I Hastalık Mekanizması.....	17
2.2.2.2. HLA sınıf II.....	18
2.2.2.2.1. Yapısı.....	18
2.2.2.2.3. HLA Sınıf II Hastalık Mekanizması .....	19
2.2.2.3. HLA sınıf III antijenler ve Fonksiyonları .....	19
2.2.2.4. HLA ile İlişkili Hastalıklar .....	20
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM.....</b>	<b>21</b>
3.1. Kullanılan Gereçler .....	21
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	22
3.3. Yöntem .....	22
3.3.1. Polisomnografi.....	22

3.3.2. Flow Sitometri İmmün Sistem Hücre Analizi .....	24
3.3.2.1. Çalışma Protokolü .....	25
3.3.3. Periferik Kandan DNA İzolasyonu .....	29
3.3.4. PCR-SSP Yöntemi .....	30
3.4. İstatistiksel Analiz .....	35
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>37</b>
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>53</b>
<b>6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....</b>	<b>59</b>
<b>7. ÖZET.....</b>	<b>61</b>
<b>8. ABSTRACT.....</b>	<b>62</b>
<b>9. KAYNAKLAR .....</b>	<b>63</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>73</b>
<b>ETİK KURUL .....</b>	<b>74</b>

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<b>OSAS</b>	: Obstrüktif uyku apne sendromu
<b>ICSD</b>	: Uluslar arası uyku bozuklukları sınıflaması
<b>AHI</b>	: Apne hipopne indeksi
<b>HLA</b>	: İnsan lökosit antijen
<b>MHC</b>	: Majör histokompatibilite kompleksi
<b>CD</b>	: Farklılaşma kümesi
<b>PSG</b>	: Polisomnografi
<b>REM</b>	: Hızlı göz hareketi
<b>NREM</b>	: Hızlı olmayan göz hareketi
<b>AASM</b>	: Amerikan Uyku Tıbbı Akademisi
<b>ODİ</b>	: Oksijen desatürasyon indeksi
<b>EEG</b>	: Elektroensefalogram
<b>EOG</b>	: Elektrokülogram
<b>EMG</b>	: Elektromyogram
<b>EKG</b>	: Elektrokardiyogram
<b>RDI</b>	: Solunum bozukluğu indeksi
<b>AI</b>	: Apne indeksi
<b>ESS</b>	: Epworth uykusuzluk ölçeği
<b>ASDA</b>	: Amerikan Uyku Bozuklukları Derneği
<b>NF-Kb</b>	: Nükleer faktör kappa B
<b>Mb</b>	: Megabaz
<b>WHO</b>	: Dünya Sağlık Örgütü
<b>kDa</b>	: Kilodalton
<b>PDI</b>	: Protein disülfid izomeraz
<b>TAP</b>	: Antijen sunumuyla ilişkili transporter
<b>PLC</b>	: Peptid yükleme kompleksi
<b>ERAAP</b>	: Endoplazmik retikulum aminopeptidaz
<b>ER</b>	: Endoplazmik retikulum
<b>ERAD</b>	: Endoplazmik retikuluma bağlı protein parçalama
<b>KIR</b>	: Katil immunglobülin benzeri reseptörler



<b>NK</b>	: Natural killer
<b>TCR</b>	: T hücre reseptörü
<b>TNF</b>	: Tümör nekroz faktör
<b><math>\mu</math>l</b>	: Mikrolitre
<b>BMI</b>	: Vücut kitle indeksi
<b>SaO<sub>2</sub></b>	: Oksijen saturasyonu
<b>EDTA</b>	: Etilendiamintetraasetik asit
<b>PCR-SSP</b>	: Single spesifik primer- Polimeraz zincir reaksiyonu



## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo 1.</b> Reaktif içeriği.....	24
<b>Tablo 2.</b> C, D, E ve F kapılarında hücrelerin yerleşim yeri .....	28
<b>Tablo 3.</b> Alt kümeleri hesaplamak için kullanılan kadranların tanımlanması.....	28
<b>Tablo 4.</b> C, D, E ve F kapılarında bulunan hücreler.....	29
<b>Tablo 5.</b> PCR şartları .....	32
<b>Tablo 6.</b> OSAS hastalığının değerlendirilme kriteri.....	37
<b>Tablo 7.</b> Oluşturulan kontrol ve hasta grubu .....	37
<b>Tablo 8.</b> OSAS hastalığının şiddetine göre oluşturulmuş gruplar.....	38
<b>Tablo 9.</b> Kontrol ve hasta grubunun verilerin dağılımı ve istatistiksel analizi.....	39
<b>Tablo 10.</b> Korelasyon analiz sonuçları .....	40
<b>Tablo 11.</b> OSAS Hastalığın şiddetine göre verilerin dağılımı.....	41
<b>Tablo 12.</b> Kontrol ve hasta grubunda cinsiyet dağılımı .....	42
<b>Tablo 13.</b> OSAS hastalığının şiddetine göre cinsiyet dağılımı .....	43
<b>Tablo 14.</b> Hardy-Weinberg Analizi.....	43
<b>Tablo 15.</b> HLA-DRB1 lokusunda görülen allellerinin frekansları.....	44
<b>Tablo 16.</b> Hasta ve kontrol grubunda HLA-DRB1 allel frekanslarının dağılımı .....	45
<b>Tablo 17.</b> Hastalığın şiddetine göre HLA-DRB1 allel frekanslarının dağılımı .....	46
<b>Tablo 18.</b> Çalışmaya katılan 96 bireyin lenfosit alt gruplarının özellikleri.....	47
<b>Tablo 19.</b> Lenfosit alt gruplarının korelasyon analizi sonuçları.....	48
<b>Tablo 20.</b> Kontrol ve hasta grubunda immün sistem parametrelerinin analizi.....	49
<b>Tablo 21.</b> Hastalığının şiddetine göre immün sistem hücrelerinin özellikleri.....	50
<b>Tablo 22.</b> Kontrol ve hasta gruplarında lenfosit alt gruplarına allellerin etkisi.....	52
<b>Tablo 23.</b> Hastalığının şiddetine göre oluşturulmuş olan gruplara allellerin etkisi... 52	

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. İnsan 6. kromozom HLA bölgesi gen haritası .....	13
Şekil 2. HLA adlandırılması .....	14
Şekil 3. HLA sınıf I molekülünün yapısı .....	16
Şekil 5. HLA sınıf II molekülünün yapısı.....	18



## RESİMLER DİZİNİ

<b>Resim 1.</b> Polisomnografi cihazı .....	24
<b>Resim 2.</b> Flow sitometre cihazı .....	26
<b>Resim 3.</b> Lenfosit kapı alma ve kontrol.....	26
<b>Resim 4.</b> C, D, E ve F kapıları.....	27
<b>Resim 5.</b> Termal Cyclers cihazı .....	31
<b>Resim 6.</b> PCR sonrası primer tray .....	31
<b>Resim 7.</b> Agaroz jel bantlarının transilluminatörde görünümü .....	33
<b>Resim 8.</b> Bantların değerlendirilmesi .....	33
<b>Resim 9.</b> Olerup SSP Start Score programına girilen bantların görüntüsü.....	34
<b>Resim 10.</b> Bantların Olerup Start Score programına girilmesinden sonra sonucu ....	35

## GRAFİKLER DİZİNİ

<b>Grafik 1.</b> Hasta ve kontrol grubu dağılım grafiği.....	38
<b>Grafik 2.</b> Hastalığının şiddetine göre oluşturulmuş gruplarda dağılım grafiği .....	38
<b>Grafik 3.</b> Kontrol ve hasta grubunda verilerinin grafiği .....	39
<b>Grafik 4.</b> Kontrol ve hasta grubunda korelasyon grafiği .....	40
<b>Grafik 5a, b, c.</b> OSAS hastalığının şiddetine göre verilerin istatistiksel grafikleri.....	42
<b>Grafik 6.</b> Kontrol ve hasta grubunda cinsiyet dağılımı.....	42
<b>Grafik 7.</b> OSAS hastalığının şiddetine göre cinsiyet dağılımı .....	43
<b>Grafik 8.</b> HLA-DRB1 lokusunda görülen allellerinin frekanslarının dağılımı .....	44
<b>Grafik 9.</b> Hasta ve kontrol grubunda HLA-DRB1 allel frekanslarının dağılımı .....	45
<b>Grafik 10.</b> Hastalığının şiddetine göre HLA-DRB1 allel frekanslarının grafiği .....	46
<b>Grafik 11.</b> Çalışmaya katılan 96 bireyin lenfosit alt gruplarının özellikleri .....	47
<b>Grafik 12.</b> Kontrol ve hasta gruplarında lenfosit alt gruplarının analiz grafiği .....	49
<b>Grafik 13.</b> Hafif ve orta OSAS hastalarının istatistiksel grafiği .....	50
<b>Grafik 14.</b> Hafif ve ağır OSAS hastalarının istatistiksel grafiği .....	51
<b>Grafik 15.</b> Orta ve ağır OSAS hastalarının istatistiksel grafiği.....	51

## 1.GİRİŞ

Uyku, hayatımızın ortalama üçte birlik kısmını kapsayan, vücudun fizyolojik ve metabolik aktivitesinin düzenlenmesinde hayati öneme sahip vazgeçilmez bir olgudur (1). Uyku sırasında solunum paternlerinde meydana gelen değişiklikler pulmoner ve sistemik arter basıncında artışa ve hipoksiye neden olarak hipertansiyon, diyabet, kardiovasküler vs. hastalıklar gibi klinik tablolara yol açmakta, yaşanan uyku bölünmeleri ise yaşam kalitesini düşürmektedir (2, 3).

Uyku sırasında solunum paternlerinde oluşan bu tablolar uykuda solunum bozuklukları olarak adlandırılmaktadır. Uluslararası Uyku Bozuklukları Sınıflaması'nın üçüncü basımı (The International Classification of Sleep Disorders-ICSD-3) uykuda solunum bozukluklarını; obstrüktif uyku apne sendromu (OSAS), santral uyku apne sendromu, uykuya ilişkili hipoveilasyon bozuklukları ve uykuya ilişkili hipoksemi bozuklukları olarak dört kategoriye ayırmaktadır. OSAS bu kategoride en sık görülen uyku bozukluğudur (4, 5).

Obstrüktif uyku apnesi, uyku esnasında apne ve hipopneye yol açan tekrarlayıcı faringeal kollaps ataklarıyla karakterize kronik bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (6). OSAS'ın teşhisi ve şiddeti, saat başı apne-hipopne ataklarının değerlendirilmesi ile apne-hipopne indeksinin (AHI) belirlenmesine dayanmaktadır. AASM sınıflamasına göre OSAS'ın şiddeti AHİ ve gündüz uykuya eğilim derecesi göz önünde bulundurularak (AHİ 5-14 hafif, 15-30 orta, 30'un üzeri şiddetli) değerlendirilmektedir (7).

OSAS'ın multifaktöryel ve poligenik bir hastalık olduğu yaş, cinsiyet, obezite gibi çeşitli predispozan faktörler ile etkileşerek ortaya çıktığı ifade edilmektedir (8-10). OSAS'a neden olan genlerin tanımlanması açısından çeşitli genom bağlantı analizleri ve aday gen ilişkilerine ait yapılan çalışmalar sonucunda uyku bozukluklarında rol oynayan genetik faktörlerin insanlarda Human Lökosit Antijen (HLA) olarak bilinen, Majör histokompatibilite kompleksi (MHC) ile ilişkili olduğunu ortaya konmuştur (11-13).

HLA, plazma membranında bulunan transmembran glikoproteindir. HLA yapısal ve fonksiyonel özelliklerine göre üç ana gruba ayrılır. Bu gruplar Sınıf I (HLA-

A, -B, -C), Sınıf II (HLA-DR, -DQ, -DP) ve Sınıf III (propeidin faktör B, C2, C4A, C4B)'dür (14). HLA moleküllerinin immün sistemdeki rolü T lenfosit hücrelerine antijen sunmaktır. Antijenler, HLA sınıf I molekülü ile sitotoksik T (CD8+T) lenfositlere sunulurken HLA sınıf II molekülü ile yardımcı T (CD4+T) lenfositlere sunulur. CD 8+T lenfositler tüm çekirdekli hücrelerde bulunurken CD 4+T lenfositler antijen sunan hücrelerde (B lenfosit, monosit, aktif T lenfosit ve dentrik hücreler gibi) bulunmaktadır (15).

OSAS hastalarında uyku sırasında meydana gelen apne-hipopne sonucunda tekrarlanan deoksijenasyon ve reoksijenasyon atakları kan oksijen saturasyonunda ani düşmeye neden olur. Beyin, oksijen eksikliğine cevap olarak solunumun normale dönmesi için kısa ani bir uyanış gerçekleştirir. Bu olay gece boyunca tekrarlanabilir ve giderek artan uyku yoksunluğuna neden olur (16). Uyku yoksunluğu savunma mekanizmalarına zarar vererek immün sisteminin bileşenlerini ve tepkilerini etkileyen değişikliklere neden olabilmektedir (17). OSAS'lı hastalarda immün sisteme ait hücrelerin lenfosit alt gruplarında CD4+T lenfositlerin azalması, CD16+56+ (NK) hücreleri, CD8+T lenfosit ve CD3+HLA DR+ antijeninde artış gibi meydana gelen değişiklikler yapılan çalışmalarla ortaya konulmuştur (18, 19). Ayrıca OSAS hastalığının otoimmün hastalıklara eşlik ettiği çalışmalarda bulunmaktadır. (20, 21).

Bu bilgilerden yola çıkarak çalışmamızda; polisomnografi (PSG) ile tanısı konulan ve şiddeti belirlenen OSAS hastaları ve kontrol grubunda HLA sınıf II gen bölgesinde bulunan HLA-DRB1 allellerinin frekansı, HLA DR antijeni ve immün sistem elemanlarını araştırdık.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Uyku ve Uyku Bozuklukları

Uyku; duyuşal aktivitenin azalması, istemli kasların inhibisyonu ve çevre ile etkileşimlerinin azalması ile karakterize doğal olarak tekrarlanan vücut ve zihin hali olarak tanımlanmaktadır (1). Uyku sırasında vücudun sistemlerinin büyük bir bölümü anabolik bir haldedir ve bağışıklık, sinir, iskelet ve kas sistemlerinin iyileştirilmesine yardımcı olur; bunlar duygudurum, hafıza ve bilişsel performansı koruyan ayrıca endokrin ve bağışıklık sistemlerinin işlevinde büyük bir rol oynayan hayati süreçlerdir (22).

Uykunun regülasyonu beynin ve santral sinir sisteminin kontrolünde olmaktadır (23, 24). Sağlıklı bir kişide normal uykunun ilk olarak 1968'de Rechtschaffen ve Kales'in editörlüğünde yapılan çalışma ile hızlı göz hareketlerinin görüldüğü Rapid Eye Movement (REM) ve hızlı göz hareketlerinin olmadığı Non-rapid Eye Movement (NREM) iki ana bölümden ve 5 evreden oluştuğu ifade edilmiştir. Günümüzde ise AASM (American Academy of Sleep Medicine) tarafından revize edilen skorlama kriterleri kullanılmaktadır. Bu skorlamaya göre toplam uyku 4 evreye ayrılmakta ve NREM 3 evreden oluşmaktadır (25).

Uyku, serotonerjik kontrol altında olan ve giderek derinleşen uykuyu ifade eden NREM uyku evresiyle başlar. Uykunun %75-80'ini oluşturan NREM elektroansefalogram (EEG) özelliklerine göre 3 evreye ayrılır (24).

NREM evresi 1, tüm uyku süresinin % 2-5'ini, NREM evre 2 % 45-55'ini ve NREM evre 3 ise % 20-25'ini oluşturur. 1. ve 2. evrelere "yüzeyel uyku", 3. evreye ise "derin uyku" denmektedir. İlk NREM uykusu 70-100 dakika sürer ve bunun büyük bölümü evre 3'te geçmektedir (26).

Tüm uyku süresinin % 20-25'ini oluşturan REM uykusu evresinde kan basıncında ve kalp hızında aralıklı ve ani değişiklikler meydana gelir ve adrenerjik kontrol altındadır (9).



Uyku, NREM'le başlar ve ilk REM döneminin sonuna kadar olan süre bir uyku siklusu olarak değerlendirilir. Bu sikluslar yaklaşık 90-120 dakikada bir tekrarlanır ve gece boyunca ortalama 4-6 kez meydana gelir (24, 27).

Uyku sırasında bazı faktörlere bağlı olarak olumsuz değişiklikler meydana gelebilir ve 'uyku bozuklukları' olarak adlandırılan patolojilere neden olur. "American Academy of Sleep Medicine" terminolojiler ve tanımlar dahil olmak üzere belirgin değişiklikler içeren uyku bozuklukları sınıflamasını son olarak 2014 yılında yayımlanmıştır (International Classification of Sleep Disorders Third Edition, ICSD-3). Bu sınıflama da insomniolar, uyku ile ilişkili solunum bozuklukları, hipersomnolansa neden olan santral bozukluklar, sirkadiyen ritim (uyku/uyanıklık) bozuklukları, parasomniler, uyku ile ilişkili hareket bozuklukları ve diğer uyku bozuklukları yer almaktadır (5).

ICSD-3 sıralamasında uyku sırasındaki solunumsal anormalliklerin tümü "uyku ile ilişkili solunum bozuklukları" başlığı altında toplanmıştır. Bu hastalıklar obstrüktif uyku apne sendromları, santral uyku apne sendromu, uyku ile ilişkili hipoventilasyon sendromları gibi klasik başlıkların yanı sıra uyku ile ilişkili hipoksemi sendromları ismi ile alt başlığa ayrılırken, horlama ise izole bir semptom olarak ele alınmıştır. Uykuda solunum bozuklukları arasında yapılan sınıflamada en sık görülen solunum bozukluğunun obstrüktif uyku apne sendromu olduğu belirtilmiştir (5).

### 2.1.1. Uyku Bozukluklarıyla İlgili Genel Tanımlar

**Apne:** Ağız ve burun hava akımının on saniye veya daha fazla süreyle  $\geq$  %90 oranında azalması olarak tanımlanır. Solunum çabalarına göre apne; santral, obstrüktif ve mikst olmak üzere üçe ayrılır (28).

**Hipopne:** On saniye ve daha uzun süre hava akımının %50 azalması ile birlikte bazal oksijen saturasyonunda  $\geq$  %3'lük düşüş ve arousal gelişimidir (28).

**Apne-Hipopne İndeksi (AHI):** Uykuda görülen apne ve hipopne sayıları toplamının saat olarak uyku süresine bölünmesi ile elde edilir (29).

**Oksijen Desatürasyon İndeksi (ODI) :** Uyku süresince görülen oksijen desatürasyonlarının saat başına düşen sayısıdır (30).

## **2.2. Obstrüktif Uyku Apne Sendromu (OSAS)**

### **2.2.1. Tanımı**

OSAS, birçok predispozan faktörün neden olduğu (genetik, yaş, cinsiyet, obezite, kraniofasial anomaliler vs.), tekrarlayıcı apne ve hipopnelerin görüldüğü, gece uyku bölünmesi ve hipoksi ile sonuçlanan üst solunum yolu obstrüksiyonu ile karakterize kompleks bir hastalık olarak tanımlanmaktadır (31).

OSAS'ın tanısı polisomnografi ile uyku sırasında saat başı apne-hipopne sayısı değerlendirilerek konulmakta ve şiddetinin sınıflandırılması ise apne-hipopne indeksi (AHI) ile yapılmaktadır. AHI, hava yollarının daralması ile bağlantılı olarak hava akımındaki azalma sıklığını ölçmektedir (32). Polisomnografi sonucunda AHI <5 olan kişiler basit horlama grubunda değerlendirilmektedir. Hastalık tanısı için seçilen AHI eşik değeri ("5") epidemiyolojik araştırmalar sonucunda ortaya çıkmıştır. Hastalık şiddetini belirlemede kabul edilen AHI düzeyleri hafif düzey için 5-14, orta düzey için 15-30, ağır düzey için ise > 30 şeklinde kabul edilmiştir (5).

### **2.2.2. Polisomnografi**

OSAS'ı teşhis edebilmek için altın standart tanı yöntemi olan polisomnografi kullanılır (33). Polisomnografi ile uyku sırasında hastanın birçok fonksiyonunun sürekli ve eş zamanlı kaydı alınmaktadır. Bu tetkik, uykunun yapısını, uykuda fizyolojik ve patolojik değişimleri, uyku dönemleri ile ilişkisi içinde inceleyerek ortaya koymaktadır. Hastalık şiddetinin belirlenmesinde ve tedavinin planlanmasında kullanılır (34).

### **2.2.3. OSAS Semptomları**

OSAS hastalığında en sık görülen semptomlar, horlama, tanıklı apne ve gündüz aşırı uykululuk halidir. Bu semptomlara ek olarak farklı semptom ve bulgular da OSAS'da görülebilmektedir (35).

### **2.2.3.1. Horlama**

OSAS hastalarında en sık görülen ve doktora başvurularının ilk sebebi olan horlama semptomu uykuda inspirasyonun kısmi olarak engellenmesiyle orofarenkste oluşan gürültülü titreşime ilişkin ses ve üst solunum yollarında anormal darlığa işaret eden bir durumdur. OSAS'lı hastalarda habitual horlama söz konusudur ve sık tekrarlayan apnelerle kesilmesi nedeniyle düzensiz horlama tipiktir (30, 36). Horlamanın prevalansı erkeklerde %25, kadınlarda %15 oranındadır ve yaş ile birlikte artmaktadır (37).

### **2.2.3.2. Tanıklı apne**

Hastanın uyku esnasında solunum hareketinin durmasının hasta yakınları tarafından belirtilmesine, tanıklı apne denmektedir ve apne nöbeti yaklaşık 10-60 saniye sürer. Apne nöbetleri OSAS'lı hastaların doktora başvurmasındaki en önemli nedenlerden biridir (37).

### **2.2.3.3. Gündüz aşırı uykululuk hali**

Uyku esnasında tekrarlayan apneler, hastanın uykusunu sık sık bölmekte, böylece hasta gecenin büyük bölümünü yüzeysel uykuda geçirmekte ve derin uykuya dalamamasına neden olmaktadır. Sonuç olarak gündüz uykuya aşırı eğilim görülmektedir (38). Aşırı uykululuğun saptanması amacıyla, bazı objektif uykululuk ölçüm yöntemleriyle değişik düzeylerde uygunluk gösteren sorgu formları kullanılır. Bu sorgu formlarından en yaygın kullanılanı Epworth Uykululuk Ölçeğidir (Epworth Sleepiness Scale). ESS'da puanlamada 0-24 arasında değişen toplam puandan 10 ya da daha fazlası pozitif kabul edilir ve hastanın OSAS için ileri tetkiki gerektiği kabul edilir (39).

### **2.2.3.4. Kardiyopulmoner semptomlar**

OSAS'lı hastalar gece boğulma hissi ile uyanma şikayeti ile başvurabilirler. OSAS'lı olgular genellikle apne sırasında devam eden güçlü solunum çabasının göğüs kafesinde yarattığı distorsiyona bağlı uyku sırasında atipik göğüs ağrısı tarif edebilirler (40).

### 2.2.3.5. Nöropsikiyatrik semptomlar

OSAS'lı olgular genellikle uyandıklarında frontal ya da diffüz baş ağrısından yakınır (40). Tekrarlayan hipoksemi ve uyku bölünmesi, bu olgularda bilişsel fonksiyonlarda bozulmaya neden olarak, karar verme yeteneğinde azalma, hafıza zayıflaması, unutkanlık, karakter ve kişilik değişiklikleri geliştirir. Çevreye uyum zorlukları kişide anksiyete ya da depresyona yol açabilir (41).

### 2.2.4. Tarihçe

Uyku konusunda ilk bilimsel yayın "The Philosophy of Sleep " İskoç bilim adamı Robert Mac Nish tarafından 1834'de yayınlanmış ve uyku apne sendromuna ait ilk tanımlamalar aşırı gündüz uykusu çeken obez kişilerin vaka sunumlarından yola çıkılarak yapılmıştır (42).

Uyku sırasında beyin aktivitesinin ilk kaydı 1929'da Alman psikiyatr Hans Berger tarafından yapılmış ve böylece ilk uyku kaydı oluşturulmuştur. Hans Berger insan beyninin elektriksel aktivitesini kaydetmiş ve uyanıklıkla uyku sırasında oluşan elektriksel aktivite farklarını göstermiştir (43).

1965'te Gastaut ve arkadaşları tarafından uyku hastalığının birbirinden ayırt edilmesinde ve özellikle OSAS tanısında altın standart tanı yöntemi olan polisomnografi ile uyku esnasında, hastalarda solunum anormallikleri, horlama ve gündüz uykusuzluğu arasındaki ilişkiyi tanımlamışlardır (44). Uyku Apne Sendromu'nun günümüzdeki tanımı ise 1973 yılında Stanford Üniversitesi'nde uyku kliniği kuran Christian Guilleminault ve arkadaşları tarafından yapılmış ve tıp literatürüne girmiştir (43).

1975'de ASDA (American Association of Sleep Disorders ) kurulmuş ve tüm dünyadaki uyku çalışmaları daha organize olarak yürütülmeye başlanmıştır (45). 1991'de ASDA tarafından "The International Classification of Sleep Disorders" uyku apnesi ve EEG uyarılarının güncel tanımları yapılmış ve uyku bozukluklarının her birine kod verilerek sınıflandırılmıştır. Son olarak 2014 yılında uluslararası uyku bozuklukları sınıflamasının üçüncü basımı yayınlanmıştır (5).

### **2.2.5. Prevalans**

OSAS prevalansı, erişkin nüfustaki erkekler için yaklaşık % 3-7 ve kadınlar için % 2-5 olarak bildirilmiştir (46).

Köktürk ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ülkemizde OSAS prevalansı, habitüel horlaması olan kişilerde saptanan OSAS prevalansının ülke popülasyonuna uyarlanmasıyla %0.9-1.9 olarak tahmin edilmiştir (47).

### **2.2.6. Patofizyoloji**

Üst hava yolu burun, farinks, larinks ve ekstratorasik trakeadan oluşmaktadır. OSAS'ta üst hava yolunun daralan ve kapanan kısmı farinkstir (48). OSAS'ın kritik fizyopatolojik özelliği, üst solunum yolunun farinks seviyesinde uykuya bağlı çöküşüdür. Obstrüktif apne ve hipopne, uyku esnasında farekste kısmen veya tamamen çöküşe bağlı olarak ortaya çıkar. Faringeal çöküş, ekspirasyonun sonunda veya inspirasyonun başında ortaya çıkabilir. OSAS hastalarında çöküşün başlangıcı (% 56-75) retropalatal / orofaringeal bölgelerde olur (9).

### **2.2.7. OSAS Hastalığında Risk Faktörleri**

OSAS'ın gelişimi ve hastalığın ilerlemesinde birçok risk faktörünün olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (49). Obstrüktif uyku apne sendromu risk faktörleri genel faktörler, anatomik faktörler, mekanik faktörler, nöromuskuler faktörler ve santral faktörler olarak incelenebilir. Bu risk faktörlerinin bazıları değiştirilebilirken (Obezite, alkol kullanımı, sigara, burun tıkanıklığı vs.) diğerleri (genetik, etnik köken, yaş ve cinsiyet vs.) değiştirilemez (34).

#### **2.2.7.1. Genel Faktörler**

##### **2.2.7.1.1. Yaş**

OSAS prevalansının yaşla birlikte arttığı ve en yüksek prevalansın 40-65 yaş grubunda olduğu bildirilmektedir (50). Fakat yaşa bağlı bu artışın sürekli olmadığı ve 65 yaşından sonra prevalansın değişmediği ifade edilmektedir (51).

#### **2.2.7.1.2. Cinsiyet**

Epidemiyolojik çalışmalar OSAS hastalığının genel olarak erkekler de kadınlara göre 2-3 kez daha fazla görüldüğünü ortaya koymuştur (4). OSAS'ın prevalansının erkeklerde daha fazla olması seks hormonları, üst havayolu şekli, kraniyofasiyal morfoloji, yağ biriktirme biçimi, mesleki etkiler ve çevresel etmenlere maruz kalmadaki farklılıklar olarak açıklanmıştır (52).

#### **2.2.7.1.2. Obezite**

Yapılan araştırmalar sonucunda OSAS hastalarının en az % 60-70'inin obez olduğu belirtilmiştir (53, 54). Obez hastaların OSAS'a yatkınlığında üst hava yolunun yapısında ve fonksiyonunda meydana gelen değişiklik, ventilasyon ve yük arasında dengede meydana gelen değişimler ve obezitenin hipoksiyi tetiklemesi gibi mekanizmalar rol oynamaktadır (55). Smith ve arkadaşları tarafından yapılan randomize çalışmada, vücut ağırlığındaki her % 1 artış için AHI'de % 3'lük bir artış olduğunu gösterilmiştir (56).

OSAS'lı hastaların üçte ikisinden fazlasının obez olmasına rağmen yapılan nüfus araştırmaları, obez olmayan bireylerde de OSAS'nın önemli bir sorun olduğunu ortaya koymaktadır (57).

#### **2.2.7.1.3. Alkol ve Sigara**

Alkol tüketimi üst solunum yolu dilatatör kaslarını gevşemesine neden olarak üst solunum yolu direnci gelişmesine buda uyku esnasında nefes almanın zorlaşmasına neden olmaktadır (58). Çalışmalarda horlama ve OSAS'ın alkol tüketimi ile ilişkisi gösterilmiş ama alkol tüketiminin OSAS oluşumundaki etkisi tam olarak açıklanamamıştır (59, 60). Sigara, solunum yolunda inflamasyona neden olarak ödemi arttırarak ve OSAS oluşumuna katkıda bulunmaktadır (59).

#### **2.2.7.1.4. Etnik Köken**

OSAS prevalansı üzerine yapılan çalışmaların incelenmesi sonucunda Asyalıların Avrupalılara göre daha zayıf olmasına rağmen yaş, cinsiyet ve AHI

açısından değerlendirildiklerinde hastalığın görülme oranı ve şiddetinin daha yüksek olduğunu belirlenmiştir (61).

#### **2.2.7.1.5. Ailesel ve Genetik Yatkınlık**

OSAS'ın ailesel yatkınlığı ilk olarak 1970'lerde Strohl ve arkadaşları tarafından hastalığa sahip bireylerin bulunduğu bir ailede fark edilmiştir (62). Sonraları yapılan büyük ölçekli çalışmalarda, obstrüktif uyku apnesinin ortaya çıkmasında kalıtım ve ailesel faktörlerin rolü olduğu doğrulanmıştır (63).

#### **2.2.7.2. Mekanik Faktörler**

OSAS hastalığına neden olan mekanik faktörler arasında; havayolu çapı ve şekli, üst solunum yolu direnci, uyku pozisyonu (sırtüstü pozisyonda uyuyan hastaların OSAS derecesini artmaktadır), burun tıkanıklığı, nöromusküler ve santral faktörler yer almaktadır (64-66).

#### **2.2.8. OSAS'ın Sonuçları**

Tekrarlanan hava yolu obstrüksiyonunun doğrudan sonuçları yanında oluşan hipoksi, sempatik stimülasyon ve arousalların oluşumu vücudun tüm fizyolojik sistemlerinde önemli bir oksidatif yük oluşturur. Hasar hücrel mediatörlerin aktivasyonu (NF- $\kappa$ B, vasküler endotelial büyüme faktörü, sitokinler, C reaktif protein ve monosit gibi) ile ilk olarak endotel fonksiyonunda meydana gelir (34, 67-69). Ayrıca genetik polimorfizm yatkınlığı olan hastaların OSAS'ın zararlı etkilerine karşı daha yatkın olduğu ve ateroskleroz gelişiminin hızlandığı bildirilmiştir (70).

##### **2.2.8.1. Hipertansiyon**

Yapılan çalışmalar OSAS'lı hastalarda hipertansiyon prevalansının daha yüksek olduğunu ve CPAP tedavisinin kan basıncını düşürdüğü ortaya konmuştur (71).

### **2.2.8.2. Kalp yetmezliği**

Sistolik kalp yetmezliği olan hastalarda santral uyku apnesinin prevalansı daha yüksek bulunmuştur. Diastolik yetmezliği olan hastalarda ise OSAS prevalansının daha yüksek olduğu belirtilmiştir (72). CPAP tedavisi alan hastaların inme riskinin azaldığı gösterilmiş ve bu nedenle kalp yetmezliği durumların da OSAS hastalarının tedavisinin öncelikli olarak yapılması gerektiği savunulmuştur (73).

### **2.2.8.3. Serebrovasküler Hastalık**

Serebrovasküler hastalığa neden olan solunum bozukluklarının öncelikli nedeni santral uyku apnesidir (74). İnme sonrası hastaların %45-90'inde OSAS saptanmıştır. Sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında OSAS olan hastalarda inme riskinin iki kat fazla olduğu görülmüştür.

### **2.2.8.4. Aritmiler**

OSAS'lı hastaların yarısına yakın bir bölümünde aritmiler görülebilmektedir. OSAS'la ilişkili en sık görülen aritmi arteriovenöz blokları olan sinüs bradikardisidir. Bunun nedeni ise apne şiddeti ile bağlantılı olarak artmış olan vagal tonus olarak açıklanmıştır (75).

### **2.2.8.5. İnsülin Rezistansı**

Yapılan çalışmalar hipoksiye maruz kalındığında glukoz-insülin korelasyonunun bozulduğunu, yaşanan uyku bölünmelerinin de glukoz toleransını etkilediğini ortaya koymuştur. Apne-hipopnelerin tekrarlanmasının insülin seviyesini %5 oranında arttırdığı belirlenmiştir (76).

### **2.2.8.6. OSAS'ın Nörodejeneratif Etkileri**

OSAS bozulmuş yaşam kalitesi, insomnia ve depresyon gelişimi ile ilişkilendirilmiştir (77).



### **2.2.8.7. Ani Ölüm**

OSAS uyku sırasında kalp hızı değişiklikleri, malign aritmiler, iskemik kalp hastalıkları ve akut miyokard infarktüsü nedeniyle ani ölüme yol açabilmektedir. Bu yüzden OSAS hastalığı uykuda ani ölüm nedenlerinden biri olarak kabul edilmektedir (78).

### **2.2.8.8. Sosyoekonomik Sonuçlar**

OSAS hastalığında yaşanan gece uyku bölünmeleri sonucunda gündüz uykuya aşırı eğilim vardır. Sonuç olarak bu hastalar trafik kazaları, iş kazaları açısından risk altındadır (79).

### **2.2.9. OSAS Hastalığının Tedavisi**

Hayat tarzında yapılan değişiklikler alkol ve sigara kullanımının azaltılması veya bırakılması, kilo verme (kilonun %10-15 oranında azalması, AHİ'yi %50 azaltır), sedatif ilaçların alımının düzenlenmesi ve burun tıkanıklığının ilaç veya cerrahi yöntemle çözülmesi horlamayı ve OSAS oluşumunu azaltır (80).

OSAS'ın tedavisinde hayat tarzını değiştirmenin yanı sıra farmakolojik tedavi, pozitif havayolu basınç tedavisi (CPAP), pozisyonel terapi, cerrahi tedavi ve ağız içi araçların kullanımı gibi yöntemler kullanılmaktadır (81).

### **2.2.10. OSAS ve İmmün Sistem**

Organ nakli sonrası doku reddi, immün yetmezlik sonucunda enfeksiyon nedeniyle ölüm, aşırı demir yüklemesi ile meydana gelen siroz, narkolepsi ve OSAS sonucunda oluşan klinik durumlar ve bunun gibi birçok hastalığın ortak özelliği HLA'nın bu hastalıkların gelişiminde rol oynamasıdır (82). Birçok hastalığın temelini oluşturan HLA sisteminin genetik yapısındaki değişiklikler geniş ve kompleks etkiler gösterir ve immün sistemin işleyişinin bozulmasına neden olur (83).

Uyku bozukluklarının genetiği ile ilgili yapılan çalışmalar genel olarak HLA üzerine yoğunlaşmıştır. HLA lokusu OSAS hastalığına yatkınlık veya korumasına neden olan genleri bulundurduğundan OSAS'ın patogenezinde genetik bir marker

olarak kabul edilmiştir (84). HLA polimorfizmleri ile uyku bozuklukları arasındaki ilişki ilk olarak Japon hastalarda ortaya konulmuş (13) ve uyku bozukluğunun immün sistem fonksiyonlarını olumsuz yönde etkilediği daha sonra yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (85).

## 2.2. Human Lökosit Antijen (HLA)

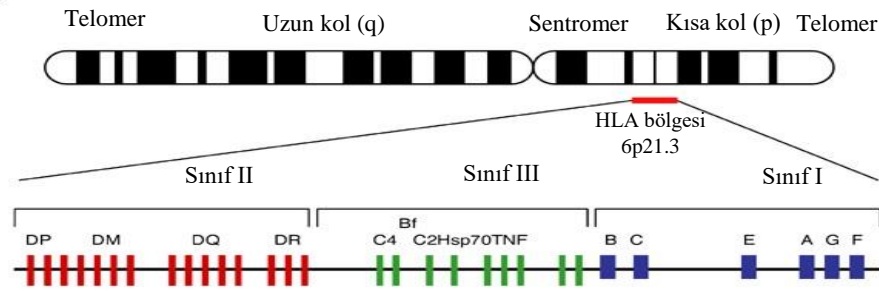
İlk olarak 1950'li yılların sonlarına doğru lökositlerde keşfedilen HLA organ transplantasyonu nedeniyle ilgi odağı olmuştur (86). Sonrasında yapılan çalışmalar HLA'nın otoimmün ve inflamatuvar hastalıklarla ilişkisini ortaya koyarak immünolojide önemli bir yer edinmesini sağlamıştır (87).

İnsan genomunda fonksiyonel birçok geni barındıran Major Histokompatibilite Kompleksi (MHC) en polimorfik bölgelerden biridir (88). İnsanlarda HLA bölgesi olarak bilinen MHC 6. kromozom üzerinde (6p21.3) 7.6 megabazlık (Mb) bölgeyi kapsar ve immün yanıt genleri de dahil olmak üzere 252 geni yapısında bulunduran en yoğun bölgedir (89). HLA antijenleri yapısal ve fonksiyonel özelliklerine göre 3 farklı sınıfta gruplandırılır.

Sınıf I antijenler HLA-A, B ve C

Sınıf II antijenler HLA-DP, DM, DRB1, DQA1 ve DQB1

Sınıf III antijenler inflamasyon ve diğer immün cevap genlerini içerir. Bu sınıfta TNF, Hsp 70, properdin faktör B (BF), C2 ve C4 bulunur (Şekil 1).

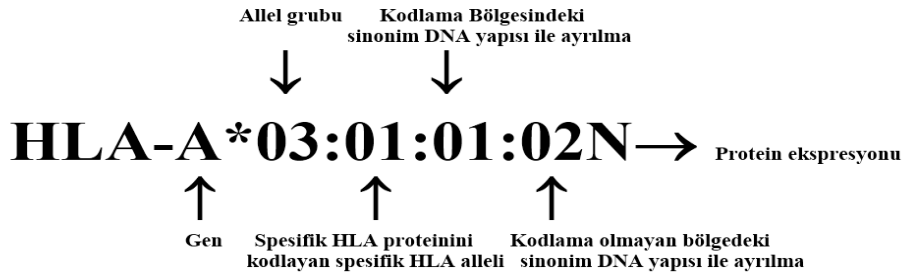


Şekil 1. İnsan 6. kromozom HLA bölgesi gen haritası (15)

### 2.2.1. HLA Terminolojisi

HLA'nın sistematik isimlendirilmesi ile ilgili kurallar genel olarak HLA nomenklatürü olarak ifade edilmektedir (90). HLA'nın tarihi süreci ve nomenklatürü

ile ilgili ilk araştırmalar 1950’li yılların sonunda başlamıştır. 1968 yılında yeni HLA genlerinin ve allel sekanslarının adlandırılması ve kalitelerinin kontrol edilmesi amacıyla “World Health Organization (WHO) Nomenclature Committee for Factors of the HLA System” komitesi kurulmuş ve günümüze kadar 19 ana rapor yayımlamıştır (91). HLA’nın adlandırılması gen adı ile başlar (A, B, DRB1 vs.). İlk ikili numara allelin ait olduğu serolojik grubu gösterirken, ikinci ikili numara ise tanımlanma sırasını ifade eder. Allel sonunda bulunan harf protein ekspresyonu hakkında bilgi verir. Bu harf sisteminde N (Null allel); eksprese olmayan alleli, L (Low allel); düşük düzeyde hücre yüzey ekspresyonu olan alleli, S (Solubl allel); salgılanan molekülün olduğu, fakat hücre yüzey ekspresyonunun olmadığı bir proteine spesifik allel, C (Cytoplasmic allel) sitoplazmada bulunan fakat hücre yüzeyinde eksprese olmayan allel ürününü, A (Aberrant allel); atipik alleli ve Q ise kuşkulu bir allel olduğunu ifade eder (şekil 2) (92).



şekil 2. HLA adlandırılması (125)

### 2.2.2. HLA’nın Moleküler yapısı ve Antijen Sunumu

İmmün yanıtta rol alan HLA genleri yapısal ve işlevsel açıdan farklı ve heterodimerik yapıya sahip olan HLA sınıf I ve II’yi içermektedir (83). HLA sınıf I ve sınıf II T hücrelerine antijen sunumunda farklı kaynaklara sahiptir. HLA Sınıf I tüm çekirdekli hücrelerin yüzeylerinde bulunur ve hücre içi proteinlerin sunumunda rol alır. Hücrede viral proteinler gibi yabancı proteinler eksprese edildiğinde bu hücreyi tanıyan ve öldüren CD8 T lenfositlere sunulur (15). Sınıf II HLA molekülleri sınırlı bir hücresel dağılım gösterir ve antijen sunan hücrelerin (B lenfositler, makrofajlar, dentritik hücreler, kupffer hücreleri ve aktif T lenfositler) yüzeyinde bulunurlar. Ekstraselüler kaynaktan gelen ekzojen antijenleri CD4 T lenfositlere sunarlar. Bu nedenle Sınıf II antijenlerine, immunité ile ilişkili antijenler de denmektedir (93).

### 2.2.2.1. HLA sınıf I

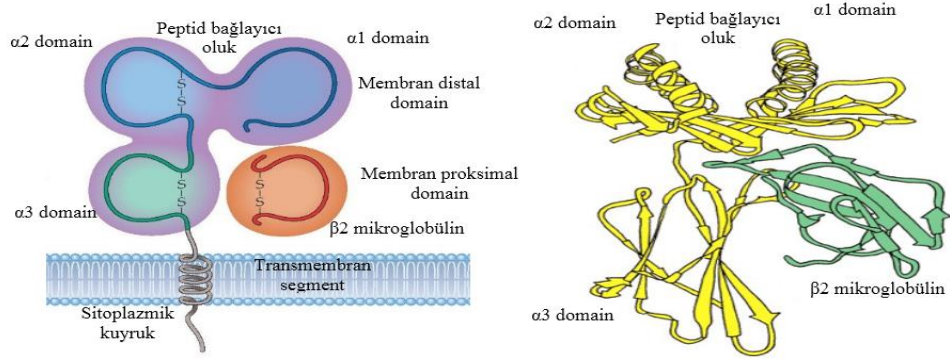
#### 2.2.2.1.1. Yapısı

Sınıf I HLA-A, -B, -C, -D, -E, -F ve -G genleri işlevsel HLA izoformlarını oluşturur. Bunlardan ilk üçü klasik HLA sınıf I antijenlerini sentezler (83).

Sınıf I antijenler glikoprotein yapısında olup iki polipeptid zincirinden meydana gelmişlerdir. Bu zincirler, 12-kDa mol ağırlığında olan kısa bir  $\beta$ 2-mikroglobülin zinciri ile bu zincire non-kovalan bağlı 45-kDa mol ağırlığında olan uzun bir  $\alpha$  zinciridir.

Alfa zinciri  $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2,  $\alpha$ 3 diye üç birimden oluşmaktadır ve dört domaine sahiptir. Bunlar iki peptid bağlayıcı domain ( $\alpha$ 1 ve  $\alpha$ 2), bir immünoglobülin benzeri domain ( $\alpha$ 3), transmembran domaini ve sitoplazmik kuyruktur.  $\alpha$ 1 ve  $\alpha$ 2 domainlerinin aminoasit sıralamasındaki farklılıklar molekülün polimorfizmini belirler ve peptid bağlama bölgesini oluşturur. HLA sınıf I molekülünün ikinci domaini  $\alpha$ 3'dür ve  $\alpha$ 2 domaininin karboksi terminalinden başlayıp plazma membranına kadar uzanır, polimorfizm görülmez (93). T lenfosit tanıma olaylarında, T hücrenin CD8 molekülü HLA sınıf I molekülünün  $\alpha$ 3 birimine bağlanmaktadır. HLA molekülünün dördüncü domaini zar içerisinde kalan kısımdır. Hidrofobik 25 aminoasitlik bu kısım, plazma zarının lipid çift tabakasına bağlanmaktadır (94). Beşinci domain ise sitoplazma içerisine giren 30 aminoasitten oluşmaktadır. Bazı kısımları büyük ölçüde korunmuş olsa da molekülün değişkenlik gösterebilen kısımlarından biridir. Bu kısmın fosforilasyonu, transpeptidasyonu molekülün diğer hücre içi proteinlerle iletişimini sağlarken bazı kısımların delesyonu da HLA sınıf I molekülünün internalizasyonunu önler (93).

$\beta$ 2-mikroglobülin 15. kromozomda lokalize olan korunmuş bir gen tarafından kodlanarak HLA sınıf I molekülüne sonradan bağlanmaktadır.  $\alpha$  ve  $\beta$ 2-mikroglobülin zincirlerinin ilişkisi sınıf I antijenlerinin fonksiyonu için önemlidir.  $\beta$ 2-mikroglobülin  $\alpha$  zincirinden ayrılması ya da konjenital eksikliği sınıf I antijeninin fonksiyonunu kaybetmesine neden olur.  $\beta$ 2-mikroglobülin HLA sınıf I molekülünün tam katlanmış konformasyona ulaşmasında gereklidir yokluğunda  $\alpha$  zinciri hücre membranına ekstrepre olamaz. Bu kısım bütün HLA sınıf I tiplerinde aynıdır (Şekil 3) (95).



Şekil 3. HLA sınıf I molekülünün yapısı (95)

### 2.2.2.1.2. Antijen Sunumu

HLA sınıf I molekülleri tüm çekirdekli hücreler tarafından eksprese edilir ve endojen antijen sunumunda rol oynar. HLA sınıf I molekülleri biri ağır zincir alfa ( $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  ve  $\alpha 3$ ) diğeri  $\beta 2$ -mikroglobülin zicir olmak üzere iki çeşit zincirden oluşur ve endoplazmik retikulumda birleşirler. Ağır zincir,  $\beta 2$ -mikroglobülin ile birleşmeden önce şaperon proteinlerinden olan kalneksin tarafından stabilize edilir. Bu moleküller peptid haline gelmeden önce kalretikulin, Erp57, protein disülfid izomeraz (PDI) ve tapasin gibi şaperonlar aracılığıyla stabilize edilirler. TAP (antijen sunumuyla ilişkili transpoter), tapasin, HLA sınıf I, Erp57 ve kalretikülin kompleksine peptid yükleme kompleksi (PLC) adı verilir. Tapasin, peptidleri sitoplazmadan ER'ye translokasyonunu yapan transport protein TAP ile etkileşir (96, 97). Peptidler, viral veya hücre kaynaklı proteinlerin parçalanmasıyla elde edilir ve ER'ye yönlendirilir. Proteinlerin parçalanması sitozolik ve nükleer proteozomlar aracılığıyla olur ve oluşan peptidler TAP vasıtasıyla ER'ye transloke edilir. TAP translokasyonu antijen işleme ile ilişkili ER aminopeptidaz (ERAAP) varlığına bağlıdır (Şekil 4) (98).

Proteinlerin %30-70'i kusurlu transkripsiyon veya translasyon nedeniyle sentezlendikten kısa bir süre içerisinde parçalanır. Bu işlem, viral peptidlerin çok hızlı bir şekilde sunulmasına olanak tanır (örneğin; influenza virüsü enfeksiyondan yaklaşık 1,5 saat sonra T hücreleri tarafından tanınabilir). Peptidler HLA sınıf I molekülüne bağlandığında şaperonlar salınır ve peptid-HLA sınıf I kompleksi hücre yüzeyine sunulmak üzere ER'den ayrılır. Bazı durumlarda peptidler HLA sınıf I molekülü ile ilişkilendirilemez ve parçalanmak üzere tekrar sitozole döner. Bazı HLA sınıf I molekülleri de peptidlere bağlanmaz ve ER'ye bağlı protein parçalanma (ERAD)

sistemi ile parçalanırlar (99).

HLA sınıf I antijen sunumu için peptit üreten farklı proteozomlar vardır. Birçok immün sistem hücresi tarafından eksprese edilen 26S'lik proteozom, immün hücreler tarafından üretilen immünproteozom ve timik epitelyal hücreler tarafından eksprese edilen timik spesifik proteozom antijen sunumu için peptid üreten proteozomların büyük bir bölümünü oluşturur (100).

HLA sınıf I molekülü tek bir hücre yüzeyinde, 10.000'den fazla proteinin ekspresyonunun okunmasını sağlar. Bu yapı hücredeki olayları izlemeye izin veren enfeksiyon ve tümör oluşumunu saptayan sitotoksik T lenfositleri ve NK hücreleri tarafından yorumlanır. Hücre membranında bulunan HLA sınıf I kompleksi zamanla ayrışarak ağır zincir hücre içerisine alınır ve endozoma dahil olarak HLA sınıf II yoluna girer (100).

HLA sınıf I molekülü aracılığıyla antijen sunumu, T hücresi reseptörü (TCR) ile HLA sınıf I molekülüne bağlı bir peptid arasındaki bir etkileşime dayanmaktadır. CD8 + T hücresi yüzeyindeki molekül ile HLA sınıf I molekülü üzerindeki peptid dışı bağlanma bölgeleri arasında da bir etkileşim vardır. Bu nedenle HLA sınıf I ile kompleks halinde sunulan peptid sadece CD8 + T hücreleri tarafından tanınabilir. (98).

### **2.2.2.1.3. HLA Sınıf I Hastalık Mekanizması**

HLA sınıf I moleküllerini içeren hastalık mekanizmaları ile ilgili iki yaygın hipotez vardır. Bu moleküller, moleküler taklit yoluyla güçlü bir otoimmün yanıtı tetikleyebilir ve süper antijen gibi davranarak endojen antijenlerin sunumunda rol oynarlar (örneğin; Mikrobiyal antijenler otoreaktif T-hücrelerini aktive eden ve otoimmüniteyi tetikleyen kendi antijenlerine benzediğinde veya antijenlerin vücudun diğer dokularına karşı çapraz reaksiyona giren güçlü bir non-spesifik bağışıklık tepkisi üretmesi gibi). Örneğin, virüsler, HLA sınıf I ve II ekspresyonunu değiştirebilir ve potansiyel olarak bazı alellerin viral / bakteri manipülasyonuna daha yatkın CD8 + T hücrelerine daha fazla antijen sunumuna yol açabilir (89).

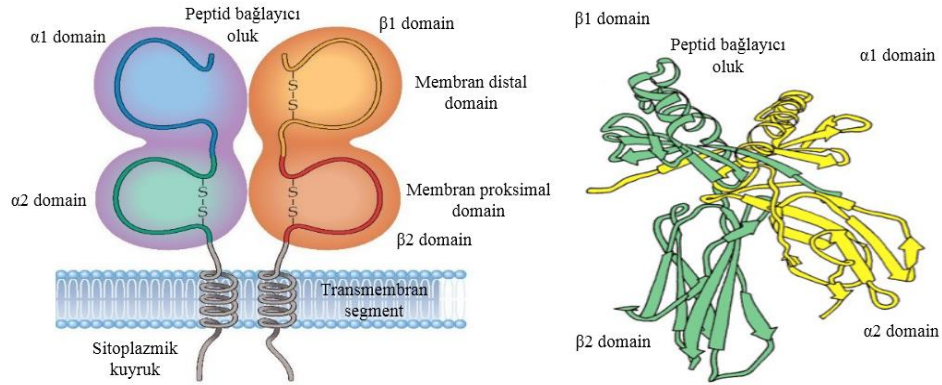
## 2.2.2.2. HLA sınıf II

### 2.2.2.2.1. Yapısı

HLA sınıf II bölge genleri 6. kromozom üzerine yerleşmiş olan beş izoform (HLA-DM, -DO,-DP,-DQ ve -DR) ve her birinin hem alfa hem beta zincir genleridir. Klasik sınıf II antijenleri olan HLA-DR-DQ ve DP'nin sentezlenmesini sağlarlar. Sınıf II genler 4-11 kb uzunluktadır. HLA sınıf II antijenleri, başlangıçta HLA-D olarak adlandırılmış daha sonra farklı antijenler bulununca D ile ilgili anlamında HLA-DR (D-related) antijeni denmiştir. Alfabede yatkınlığı nedeniyle bu bölgede ki diğer farklı antijenler de HLA-DQ, HLADP olarak adlandırılmıştır (101).

HLA sınıf II moleküller, non-kovalent bağlarla bir arada tutulan alfa ve beta olmak üzere iki adet transmembran glikoprotein zincirinden oluşan heterodimerlerdir. Her iki zincirin de dört bölgesi vardır ve hücre zarı dışında sırasıyla  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  ve  $\beta 1$ ,  $\beta 2$  olmak üzere 2 domainleri bulunur (83).

$\alpha 1$  ve  $\beta 1$  zincirleri HLA sınıf I molekülünde olduğu gibi antijenlere ait peptidlerin yerleşebileceği kovuğa benzer bir yapı oluştururlar (Şekil 5) (89, 93).



Şekil 4. HLA sınıf II molekülünün yapısı

### 2.2.2.2.2. Antijen Sunumu

HLA sınıf II molekülleri, dendritik hücreler, makrofajlar, B hücreleri ve aktif T lenfositler gibi antijen sunan hücreler tarafından eksprese edilir. HLA sınıf II molekülleri, endositik yolda parçalanan proteinlerden elde edilen peptidlere bağlanır. HLA sınıf II kompleksleri, ER'de birleşen  $\alpha$  ve  $\beta$  zincirlerinden oluşur ve değişmeyen

zincir (li) ile stabilize edilirler. HLA sınıf II ve li kompleksi, HLA sınıf II bölümü ((MIIC) olarak adlandırılan bölüme golgi boyunca taşınır. Asidik pH'dan dolayı proteazlar katepsin S ve katepsin L aktive olur ve li'yi sindirerek HLA sınıf II'nin peptid bağlayan oluğunda sınıf II ile ilişkili peptid (CLIP) kalıntısını bırakır. Daha sonra, CLIP, endozomal yolda parçalanmış bir proteinden elde edilen antijenik peptid ile değiştirilir. Bu süreçte HLA-DM ve B lenfositler için HLA-DQ şaperonları gereklidir (102). Yabancı peptidle yüklenmiş HLA sınıf II molekülleri kargolarını CD4 + T hücrelerine sunmak üzere hücre zarına taşınır. Bundan sonrası temel olarak HLA sınıf I sunumuyla aynıdır (Şekil 6) (103).

HLA sınıf II molekülleri sınıf I molekülünden farklı olarak plazma membranında ayrışmazlar. HLA sınıf II yıkımını kontrol eden mekanizmalar henüz tam olarak belirlenmemiştir. Fakat HLA sınıf II moleküllerinin ubiquitinize edilerek endositik bir yolda özümsemiği düşünülmektedir (83).

#### **2.2.2.2.3. HLA Sınıf II Hastalık Mekanizması**

HLA sınıf II hastalık oluşum mekanizmasında, HLA sınıf II moleküllerinin otoimmün hastalıklarda rol oynayacağı potansiyel yollar öne sürülmektedir. Örneğin HLA moleküllerinin bağlayıcı oluklarındaki farklılıklar otoreaktif T hücrelerinin immün toleranstan kaçmasına ve perifere geçmesine izin verebilir. Bu olay timik toleransa ve kendi moleküllerini tanımayan bir hücre popülasyonunun oluşmasına neden olabilir. HLA molekülünün T hücre reseptörünün (TCR) polimorfik rezidüleri T-regüler popülasyondan ziyade otoreaktif T hücrelerini seçebilir. Spesifik HLA moleküllerinde görülen koruyucu etkiler, otoreaktif T hücrelerini belirli bir bölgede tutabilen T regülatör hücrelerin varlığına bağlı olabilir; bu da hastalıkların, hastalığa yatkınlığa değil, korunmada başarısızlıkla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir (89, 104).

#### **2.2.2.3. HLA sınıf III antijenler ve Fonksiyonları**

Sınıf I ve sınıf II bölgeleri arasında, kompleman sistemin klasik yolunun C2, C4B, C4A alternatif yolun properdin faktör B komponentlerini ve tümör nekrozis faktör  $\alpha$  ve  $\beta$ 'yi kodlayan sınıf III bölgesi yer almaktadır. Steroid 21 hidroksilaz A ve



B de bu grupta yer almakla beraber, transplantasyon antijenleri olarak rol oynamadıkları gibi T hücrelerine de antijen sunmamaktadırlar (105). İnflamasyon oluşumu, yabancı materyalin fagositoz için hazırlanması, çeşitli hücre ve mikroorganizmalara karşı antikorla ilişkili sitotoksitenin düzenlenmesi olan kan proteinleri ile ilgili bir kompleksin üyeleri olarak görev yaparlar. C2, C4, BF genleri kompleman komponenti C3 proteinini aktive ederler. TNF ateş yükselmesi, tümörlerin inhibisyonu, kompleman genlerinin transkripsiyonun uyarılması ve nötrofilik granülositlerin aktivasyonu ile görevlidir. 21-hidroksilaz ise kortizol biyosentezi ve TNF sentezi ile ilgilidir (106, 107).

#### **2.2.2.4. HLA ile İlişkili Hastalıklar**

Otoimmün hastalıkların çoğunun HLA ile ilişkisi bulunmaktadır. Yani belli hastalıklar belli allelleri taşıyan bireylerde daha sık görülür. Bununla birlikte, belirli HLA molekülleri ile hastalık birleşmesinin altında yatan moleküler mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır. HLA ile ilişkili birçok hastalık diğer genetik varyantlar ve çevresel faktörlerin kombinasyonu ile meydana geldiğinden poligenik-multifaktöryel hastalıklar olarak tanımlanmaktadır.

HLA hastalık ilişkisi; romatoid artirit (RA), Tip I diyabet, Behçet hastalığı, ankilozan spondilit, sistemik lupus eritematozus (SLE), Graves, narkolepsi gibi hastalıklar da gösterilmiştir (89, 108).

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmada kontrol ve hasta örnekleri Isparta Şehir Hastanesi Göğüs Hastalıkları Uyku Laboratuvarı ve Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Göğüs Hastalıkları A.D. Uyku Laboratuvarından Şubat 2017-Kasım 2017 tarihleri arasında elde edilmiştir. Çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıbbi Biyoloji ve Tıbbi Mikrobiyoloji Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın gerçekleştirilebilmesi için Süleyman Demirel Üniversitesi Rektörlüğü Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığından 18/01/2017 tarih ve 4 sayılı kararı ile etik kurul izni alınmıştır.

OSAS şüphesiyle kliniğe başvuran bireylere polisomnografi yapılarak sonuçlar değerlendirilmiştir (AHI>5 hasta AHI<5 kontrol). Bu sonuçlara göre 34 kontrol ve 62 OSAS hastasından 10 ml kan EDTA'lı tüplere alınarak bekletilmeden Flow Sitometri çalışılmış ve PCR-SSP yapılmak üzere +4 °C'de saklanmıştır.

#### 3.1. Kullanılan Gereçler

Polisomnografi Cihazı (Avusturalya)

BD FACS Calibur Flow Cytometer (USA)

Termal Cyclers (Peqlab Primus 96, Germany)

Mikrosantrifüj (Hearus Biofuge, , Germany)

Buzdolabı (Arçelik, Türkiye)

Bidistile su cihazı (Millipore simlicity, France)

Laminar hava kabini (ESCO, Türkiye)

Vorteks (Nüve, Türkiye)

Hassas terazi (Shimadzu AX, Japan)

Manyetik karıştırıcı (IKA RH, Brazil)

Elektroforez tankı (Scie-plas, UK)

Elektroforez güç kaynağı (Consort, Belgium)

UV Transillüminatör (Ultra Lum. Inc., Türkiye)

Isıtıcı blok (Türkiye)

Ependorf tüpü (Corning, USA)

Falkon tüp (12x75 ml, Mexico)

Transfer pipeti (USA)

Mavi pipet ucu (Boeco)

Sarı pipet ucu (Boeco)

DNA saklama kutusu (Biosigma)

Tüp sporu

### **3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler**

BD Simultest™ IMK Plus (USA)

GeneAll Exgene mini Kit (Güney Kore)

Olerup SSP HLA typing kits without Taq polymerase (İsveç)

Etanol

Etidyum Bromid (Sigma, Germany)

Taq DNA polimeraz (Qiagen, Hollanda)

Molecular weight marker DNA (Thermo Scientific, USA)

CellWASH (İngiltere)

Lysing solution (USA)

### **3.3. Yöntem**

#### **3.3.1. Polisomnografi**

OSAS şüphesi olan hastalar gece boyunca uyku laboratuvarında yatırılarak PSG yapıldı. EEG, EOG, çene EMG'si, solunum çabası, oksimetri, vücut pozisyonu, hava akımı, horlama, nabız ve bacak hareketleri kanallarını kaydetmek için

uluslararası 10-20 elektrot yerleştirilerek kullanılan dijital uyku sistemi ile polisomnografi yapıldı. PSG’de elektroensefalografi (4 kanal), elektrookulografi (2 kanal), çene elektromiyografi (2 kanal), bacak elektromiyografi (2 kanal), elektrokardiyografi (EKG), göğüs ve karın solunum hareketleri (2 kanal), nazal basınç ölçer ile hava akımı, parmak ucu pulse oksimetreyle oksijen satürasyonu (SaO<sub>2</sub>: 1 kanal) kaydedildi (Resim 1). Uyku evreleri Rechtschaffen ve Kales’in standart kriterlerine ve 2007 yılında AASM (American Academy of Sleep Medicine) tarafından, uyku ve ilişkili olayların skorlanmasına ilişkin kurallar, terminoloji ve teknik özelliklere yönelik yayınlanan ve 2012 yılında “Manual for Scoring Sleep- Version 2” adıyla revize edilen skorlama kriterlerine göre skorlandı (109-111). Apne 10 saniyeden daha uzun süreli hava akımının tam kesilmesi, hipopne 10 saniye veya daha fazla süreyle oronazal hava akımında en az %30 azalmayla birlikte solunumsal olay öncesine göre en az %3 oksijen desatürasyon veya arousal gelişmesi olarak tanımlandı.

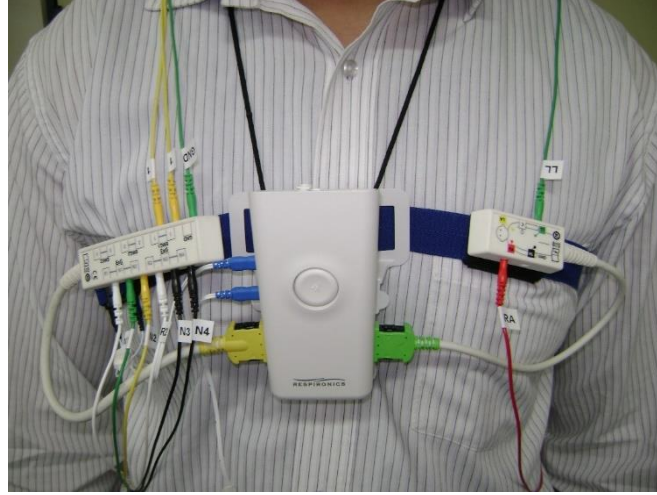
AHI obstrüktif apne ve hipopnelerin toplamının toplam uyku süresine bölünmesiyle hesaplandı. AASM tarafından yayınlanan Uluslararası Uyku Bozuklukları Sınıflamasına göre AHI > 5 olup

1) Uyanık kalınması gereken dönemde uyuyakalma, gündüz aşırı uyku hali, dinlendirici olmayan uyku, insomni veya aşırı yorgunluk

2) Hastanın soluk tutma, gürültülü soluma veya boğulma hissiyle uyanması,

3) Eşin gürültülü horlama, soluk durmaları veya her ikisini de bildirmesi

4) Hastanın Hipertansiyon (HT), bilişsel disfonksiyon, korone arter hastalığı, durgudurum bozukluğu, inme, konjestif kalp yetmezliği, atriyal fibrilasyon veya tip 2 diyabetes mellitus tanısı alması veya Skorlanan solunum bozuklukları (apne ve hipopne )  $\geq 15$ /sa durumunda OSAS tanısı konuldu (5). SaO<sub>2</sub> %90’nın altındaki değerler desatürasyon olarak değerlendirildi.



**Resim 1.** Polisomnografi cihazı

### 3.3.2. Flow Sitometri İmmün Sistem Hücre Analizi

Polisomnografi sonrası EDTA'lı tüplere alınan 10 ml kan örneği oda sıcaklığında en fazla 6 saat bekleyecek şekilde çalışıldı. Hemolizli kanlar çalışmaya dahil edilmedi. Reaktif içerikleri Tablo 1'de verilmiştir. Çalışma protokolü aşağıda ifade edildiği gibi uygulandı.

**Tablo 1.** Reaktif içeriği

Reaktif	Bileşimi
A: BD Leucogate	CD45 FITC CD14 PE
B: Kontrol	IgG1 FITC IgG2a PE
C: CD3/CD19	CD3 FITC CD19 PE
D: CD4/CD8	CD4 FITC CD8 PE
E: CD3/HLA-DR	CD3 FITC Anti-HLA-DR PE
F: CD3/CD16+CD56	CD3 FITC CD16 PE CD56 PE

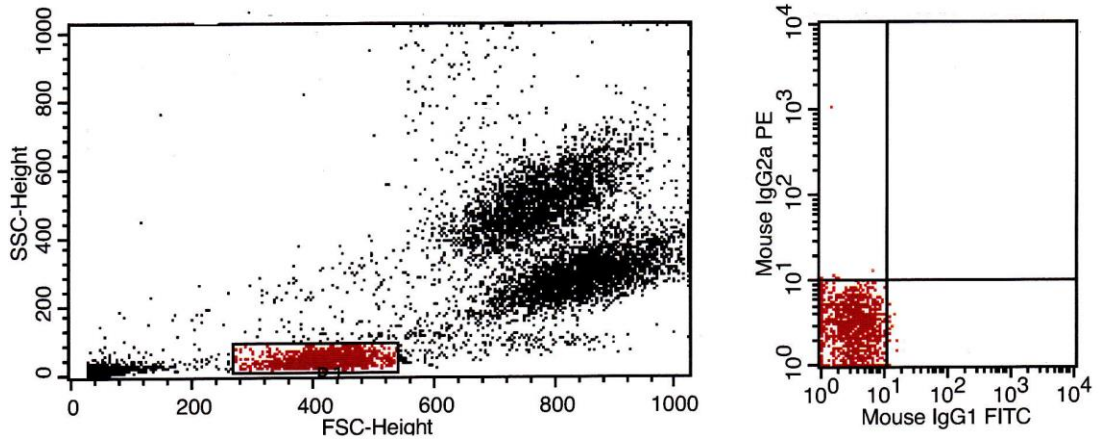
### 3.3.2.1. Çalışma Protokolü

1. Her hasta numunesi için 6 adet 12 x 75 mm Falkon tüp alınarak içerisindeki boyama reaktiflerinin sırasına göre A'dan F'ye kadar etiketlendi. Ayrıca her hastaya numara verildi.
2. A'dan F'ye kadar etiketlenmiş tüplere sırasıyla 20 µl reaktif konuldu.
3. Her hasta numunesi için yeni bir pipet ucu kullanılarak tüpün her birinin alt kısmına 100 µl EDTA'lı kan örneği eklendi. Düşük hızda 3 saniye vortekslenerek oda sıcaklığında ve karanlık ortamda 15-30 dak. inkübasyona bırakıldı.
4. 10X BD FACS lizis solüsyonu distile su ile 1X yapıldı ve her tüpe oda sıcaklığında 2 ml ilave edilerek her tüp 3 saniye vortekslendi. Karanlık ortamda 10-12 dakika inkübasyona bırakıldı.
5. Tüpler inkübasyondan sonra oda sıcaklığında (20-25°C) 300 g'de 5 dakika santrifüj edildi.
6. Tüplerin alt kısmında pelletin atılmamasına dikkat ederek 50 µl kalacak şekilde süpernatant atıldı.
7. Pelletin tekrar süspanse olması için tüpler düşük hızda vortekslendi. Üzerine 2 ml BD Cell Wash solüsyonu ilave edilerek 3 saniye düşük hızda vortekslendi ve oda sıcaklığında 200 g'de 5 dakika santrifüj edildi.
8. Tüplerin alt kısmında pelletin atılmamasına dikkat ederek 50 µl kalacak şekilde süpernatant atıldı.
9. Pelletin tekrar süspanse olması için tüpler düşük hızda vortekslendi. Üzerine 500 µl BD CellFIX solüsyonu ilave edilerek 3 saniye vortekslendi.
10. BD FACS Calibur Flow Cytometer cihazında hücrelerin sayımı yapıldı (Resim 2).

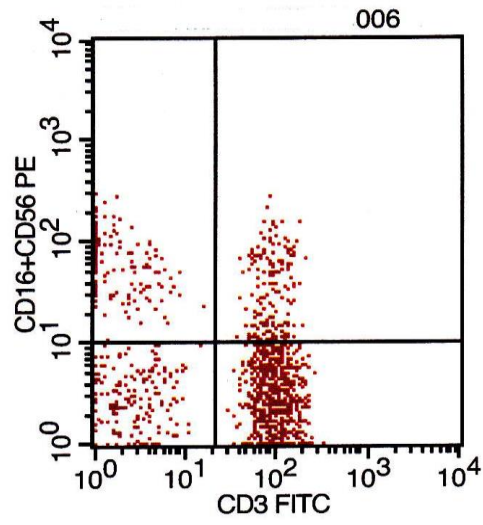
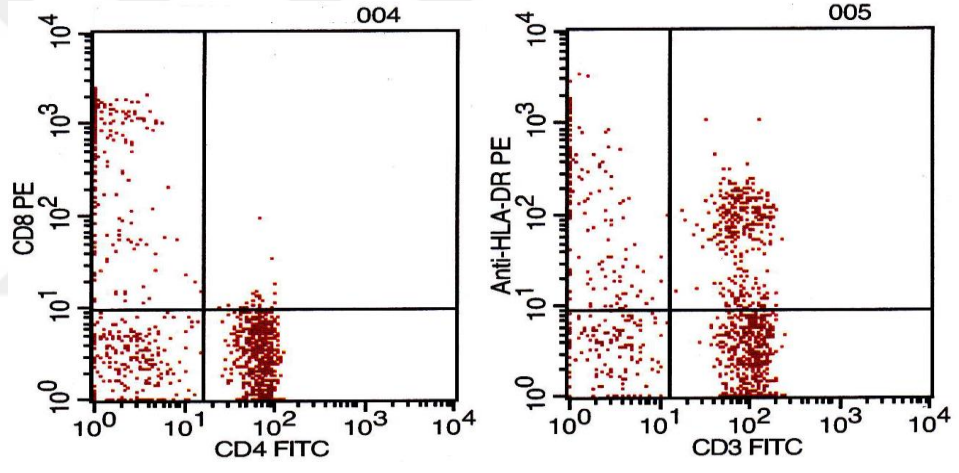
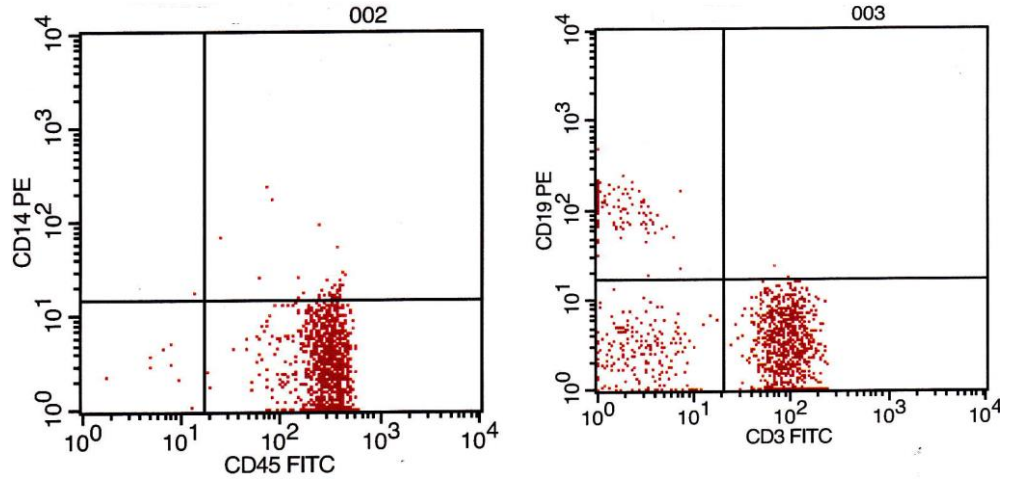


**Resim 2.** Flow sitometre cihazı

Yapılan hücre sayımı sonrası A tüpü lenfositler üzerinde kapı almak için kullanılırken B tüpü kontrol olarak kullanılmıştır (Resim 3 ve 4).



**Resim 3.** Lenfosit kapı alma ve kontrol



Resim 4. C, D, E ve F kapıları



C, D, E ve F tüpleri için veriler, BD Simultest IMK Plus yazılımı tarafından, A ve B kapıları ve işaretleyicileri kullanarak elde edildi ve analizi yapıldı (Tablo 2,3 ve 4).

**Tablo 2.** C, D, E ve F kapılarında hücrelerin yerleşim yeri

Tüp C (CD3/CD19)		Tüp D (CD4/CD8)	
<b>Q1</b> CD3–CD19+ B lenfositler	<b>Q2</b> Nonantijen-spesifik antikör bağlama	<b>Q1</b> CD4-CD8 + baskılayıcı / sitotoksik ve NK lenfositleri	<b>Q2</b> CD4+CD8+ lenfositler
<b>Q3</b> Boyanmamış lenfositler kontamine monosit,granülosit ve atık	<b>Q4</b> CD3+CD19– T lenfositler	<b>Q3</b> Boyanmamış lenfosit, granülosit ve atık	<b>Q4</b> CD4 + CD8-yardımcı / indükleyici lenfositler
Tüp E (CD3/Anti–HLA-DR)		Tüp F (CD3/CD16+CD56)	
<b>Q1</b> CD3-Anti-HLA- DR + B lenfositler, aktif NK lenfositleri;monosit ler / makrofajlar	<b>Q2</b> CD3+Anti–HLA DR+ Aktif T lenfositler	<b>Q1</b> CD3–CD16+CD56+ NK lenfositler	<b>Q2</b> CD3+CD16+CD56 + T lenfosit alt grubu
<b>Q3</b> Boyanmamış lenfositler kontamine monosit, granülosit ve atık	<b>Q4</b> CD3+Anti–HLA- DR– T lenfositler	<b>Q3</b> Boyanmamış lenfositler kontamine monosit, granülosit ve atık	<b>Q4</b> CD3+CD16–CD56– T lenfositler

**Tablo 3.** Alt kümeleri hesaplamak için kullanılan kadrantların tanımlanması

Tüp	%L*	%M*	%G*	%D*	Kapı alınmış toplam T lenfosit yüzdesi
A (BD Leucogate)	95	1	3	1	99

\* % L, % M, % G ve % D BD Leucogate tarafından tanımlanan kapıdaki tüm olayların yüzdeleri olarak ifade edilen lenfositler, monositler, granülositler ve atık.

**Tablo 4.** C, D, E ve F kapılarında bulunan hücreler

<b>Tüp</b>	<b>Hücre Tipi</b>	<b>Kadran</b>	<b>% Lenfosit</b>
C (CD3/CD19)	Total T lenfosit	Q4	82
	Total B Lenfosit	Q1	9
D (CD4/CD8)	Helper/İnükleyici Lenfosit	Q2, Q4	50
	Supresör/sitotoksik	Q1, Q2	41
E (CD3/Anti-HLA-DR)	Total T lenfosit	Q4	81
	Aktif T lenfosit	Q2	18
F (CD3/CD16+CD56)	Total T lenfosit	Q4	81
	NK lenfosit	Q1	7

### **3.3.3. Periferik Kandan DNA İzolasyonu**

1. 1,5 ml'lik ependorf tüpünün dip kısmına 20 µl Proteinaz K solüsyonu konuldu.
2. Üzerine 200 µl EDTA'lı tüpten alınan kan transfer edildi ve vortekslendi.
3. 200 µl Buffer BL ependorf tüpüne ilave edildi. Vortekslenerek 56°C'de 10 dakika inkübe edildi.
4. İnkübasyondan sonra 200 µl absolu etanol ilave edildi ve vortekslendi.
5. Karışım dikkatli bir şekilde SV kolona transfer edildi. 8.000 rpm üzerinde 1 dakika santrifüj edildi ve yeni bir koleksiyon tüpü yerleştirildi.
6. 600 µl buffer BW ilave edilerek 1 dak. 8.000 rpm üzerinde santrifüj edildi ve yeni bir koleksiyon tüpü yerleştirildi.
7. 700 µl TW buffer ilave edildi. 1 dak. 8.000 rpm üzerinde santrifüj edildikten sonra koleksiyon tüpü dökülerek SV kolonun altına tekrar yerleştirildi.
8. Maksimum hızda 1 dak. santrifüj edilerek wash buffer kalıntıları uzaklaştırıldı.
9. Altına ependorf tüpü konularak 200 µl AE buffer spin kolona ilave edildi ve 1 dakika oda ısısında inkübe edildi. Sonrasında maksimum hızda 1 dakika santrifüj edilerek elde edilen DNA'lar PCR-SSP'de kullanılmak üzere -20°C'ye kaldırıldı.

### 3.3.4. PCR-SSP Yöntemi

Bu yöntem için HLA-DR low resolution-SSP (Prod. No.:101.101-48u-wihout taq polymerase, Olerup, İsveç) kiti kullanılmıştır.

Bu kitin içerisinde

Olerup SSP primer trayleri (Önceden alikotlanmış primerlerin olduğu 32 kuyucuklu plak)

Taq polimerazsız Master Mix

Yapışkan PCR sealleri

Ürün insörtü bulunmaktadır.

1. Master mix, Primer trayleri, DNA örneği, PCR seal ve distile su çıkarıldı. Oda ısısına getirilerek ve hazırda bekletildi.

2- Master mix ve DNA örneği vortekslenerek quick run yapıldı.

3- Oda ısısında ependorf tüpüne

177,1 µl distile su

108 µl master mix

2,9 µl taq polimeraz konuldu ve 5sn vortekslenerek quick run yapıldı.

(Primer trayleri üzerindeki lot. no: 1E5-91Y yazan bölüm 1 numara olarak işlemler yapıldı).

4. Master mix-taq pol- dH<sub>2</sub>O karışımından 8 µl ve dH<sub>2</sub>O'dan 2 µl alınarak negatif kontrol kuyusuna eklendi (Toplam 10 µl).

5. 72 µl DNA örneği kalan master mix-taq pol-dH<sub>2</sub>O karışımına oda ısısında eklendi. 5sn vortekslenerek quick run yapıldı.

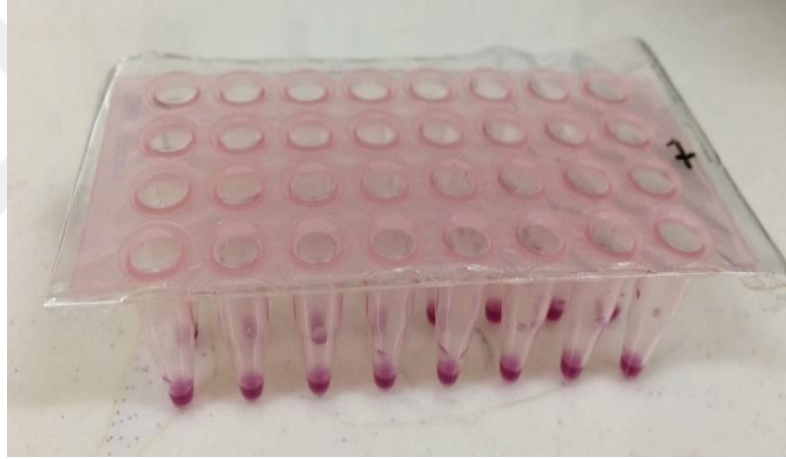
6. Negatif kontrol haricindeki 31 kuyucuğa 10'ar µl ilave edildi.

7. Primerler trayin üzeri PCR seal ile iyice kapatılarak Thermal Cycling e yerleştirildi ve PCR programı başlatıldı (Resim 5).



**Resim 5.** Termal Cycler cihazı

PCR sonrası primer tray Termal Cycling'den alındı (Resim 6).



**Resim 6.** PCR sonrası primer tray

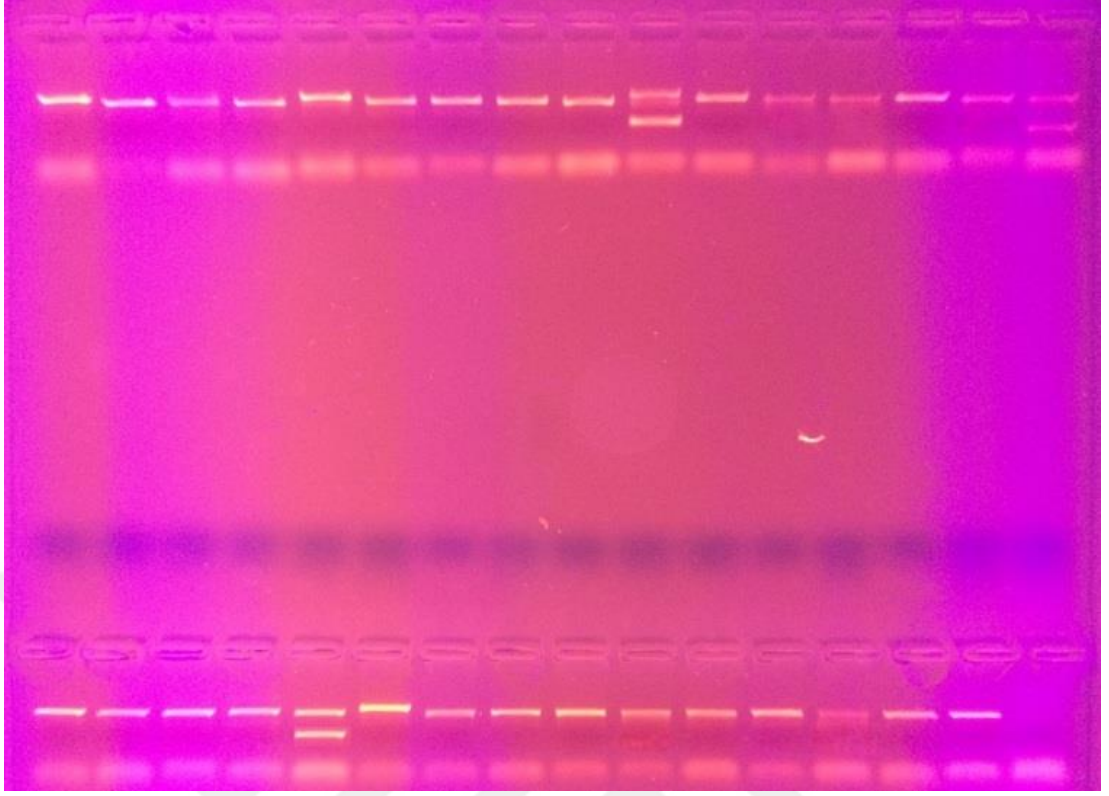
PCR şartları üretici firmanın protokolüne uygun olarak düzenlendi ve ortalama PCR süresi 1 saat 20 dakika olarak tespit edildi (Tablo 5).

**Tablo 5.** PCR şartları

94°C	2 dakika	Denaturasyon	1 siklus
94°C	10 saniye	Denaturasyon	
65°C	60 saniye	Annealing ve extension	10 siklus
94°C	10 saniye	Denaturasyon	
61°C	50 saniye	Annealing	20 siklus
72°C	30 saniye	Extension	
+4°C	∞		

PCR işlemi sonrası 1X TBE (Tris-Boric asit-EDTA tampon) içerisine 2 gr toz agaroz eklenerek mikrodalga fırında eriyene kadar kaynatılmıştır (%2'lik agaroz jel). Eriyip berraklaşan agarozu 5 µl etidyum bromid ilave edildi. Elektroforez tepsisine taraklar yerleştirildikten sonra jel dökülüp donması için beklendi. Sonrasında PCR ürünleri hazırlanan 32 kuyucuğa sahip jelle sırayla yüklenerek ve 8-10 V/cm de 15-20 dakika yürütüldü. Elektroforez tankından çıkarılan jel UV transilluminatöre konularak bantlar görüntülenmiştir.

PCR-SSP yöntemi ile agaroz jel üzerinde HLA-DRB1 allel bantları belirlenerek program üzerinde veriler elde edildi. Agaroz jelde bantların görünümü aşağıdaki gibidir (Resim 7).



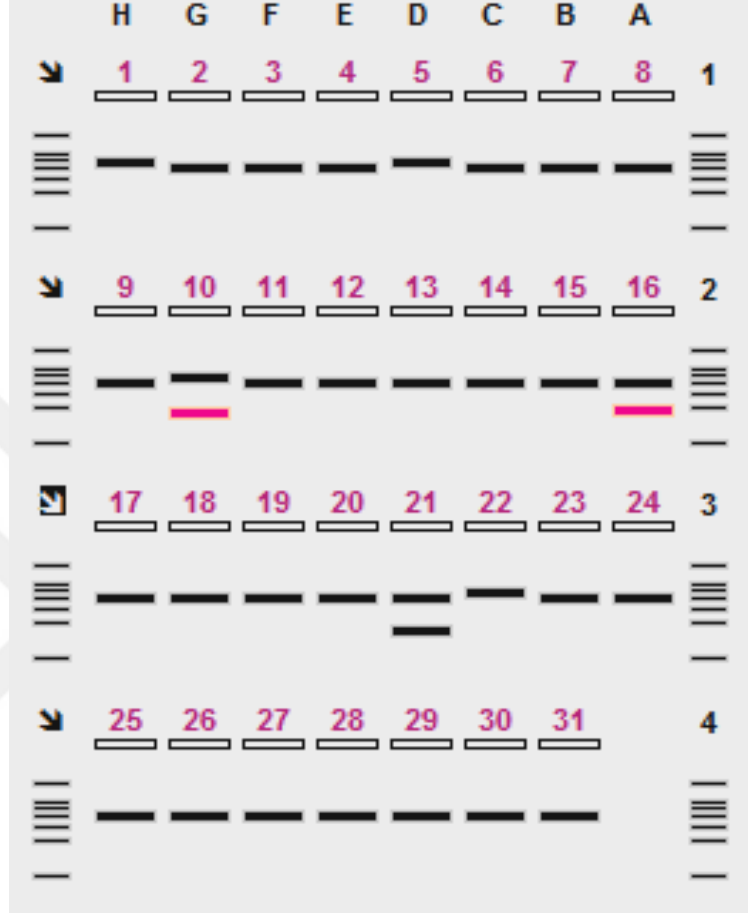
**Resim 7.** Agaroz jel bantlarının transilluminatörde görünümü

Bant görünümlerinin değerlendirilmesi resim 8'deki gibi olmaktadır

	Pozitif reaksiyon	Negatif reaksiyon	Başarısız PCR reaksiyonu
Kuyucuk			
İnternal pozitif kontrol bant			
Spesifik bant			
Primer bant			

**Resim 8.** Bantların değerlendirilmesi

Elde edilen bantlar Olerup SSP Start Score programı kullanılarak değerlendirilmiştir (Resim 9 ve 10). Yapılan PCR-SSP protokolü hasta ve kontrol grubunda bulunan örnekler için ayrı ayrı tekrarlandı (96 örnek).



**Resim 9.** Olerup SSP Start Score programına girilen bantların görüntüsü

### Tested SSO/SSP Kits:

### DR low resolution/1E5



1  2  3  4  5  6  7  8   
9  10  11  12  13  14  15  16   
17  18  19  20  21  22  23  24   
25  26  27  28  29  30  31

source: typingkit\_olerup\_20170201.07.vda  
alleleDb allele\_marsh\_HLADB\_3.26.0R

### summarised typing interpretation:

common	alleles			tolrc.	x-react.
DRB1*08		DR8		(0)	(0)
DRB1*08	DRB1*08	DR8	DR8	(0)	(0)
rare	combinations			tolrc.	x-react.
DRB1*08	DRB1*08	DR8, -, Null	DR8, -, Null	(0)	(0)
DRB1*08	DRB1*16:40	DR8, -, Null	.	(0)	(0)

**Resim 10.** Bantların Olerup Start Score programına girilmesinden sonra sonucu

### **3.4. İstatistiksel Analiz**

Tüm olgularda HLA-DRB1 allel frekansları ve Hardy-Weinberg Dengesi (HWE) Arlequin v352 yazılımı kullanılarak hesaplandı (112). OSAS hasta ve kontroller arasındaki HLA-DRB1 allel frekanslarındaki farklılıklar, Yates ve Fisher's exact doğrulamalı ki-kare ( $\chi^2$ ) testi ile karşılaştırıldı. OSAS ve HLA-DRB1 genotipleri arasındaki ilişkinin bir ölçütü olarak odds ratio (OR) ve % 95 güven aralıkları (CI) hesaplandı.

Verilerin normallik dağılımı Kolmogorov-Smirnov Testi ile hesaplandı. Kontrol ve hasta grubu için sayısal parametreler, bağımsız örneklem t-Testi ve Mann-Whitney *U* analizi kullanılarak normallik dağılımına göre analiz edildi. Korelasyon analizinde Pearson veya Spearman's analizleri kullanıldı. Korelasyonun gücü; zayıf (0.20-0.39), orta (0.40-0.59), güçlü (0.60-0.79) veya çok güçlü (0.80-1.00) olarak



sınıflandırıldı.

Gruplar arası karşılaştırmada One Way ANOVA kullanıldı (Post hoc Tukey-tamhane). Allellerin lenfositlerin alt gruplarına etkisi One-Way ANCOVA ile değerlendirildi.

İstatistiksel analizler, IBM SPSS 20.0 kullanılarak % 95 güven aralığında yapıldı ve  $p < 0.05$  anlamlı kabul edildi.



## 4. BULGULAR

Bu çalışmada Şubat 2017-Kasım 2017 tarihleri arasında Isparta Şehir Hastanesi Göğüs Hastalıkları ve Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Göğüs Hastalıkları A.D. Polikliniklerine başvuran bireylerden OSAS şüphesi olanlar uyku laboratuvarına yönlendirilmiştir. Uyku laboratuvarında yaş, cinsiyet, vücut kitle indeksi (BMI: Body mass index) kayıt altına alınan bireyler bir gece boyunca PSG cihazına bağlanarak aşağıdaki parametreler ölçülmüştür.

AHI (Apne-Hipopne İndeksi)

ODİ (Oksijen Desaturasyon İndeksi)

(%) SaO<sub>2</sub> (Oksijen Satürasyonu)

PSG ile ölçülen bu parametrelerden AHI, OSAS hastalığının değerlendirilmesinde kullanılmıştır (Tablo 6).

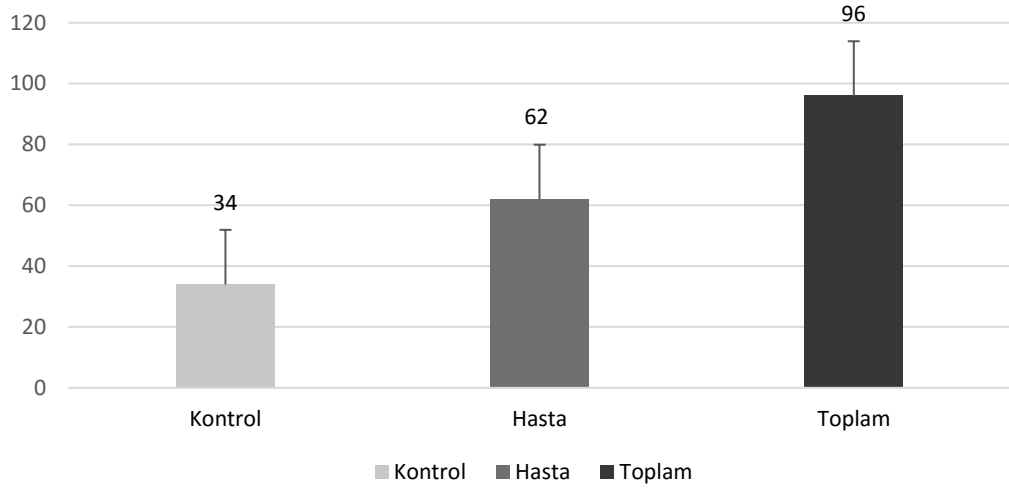
**Tablo 6.** OSAS hastalığının değerlendirilme kriteri

	<b>Basit Horlama</b>	<b>Hafif</b>	<b>Orta</b>	<b>Ağır</b>
AHI	<5	5-14	15-30	> 30

Bu değerlendirme sonucunda toplam 96 birey kontrol ve hasta olarak aşağıdaki tabloya göre gruplandırılmış ve grafik olarak dağılımı gösterilmiştir (Tablo 7) (Grafik 1).

**Tablo 7.** Oluşturulan kontrol ve hasta grubu

<b>Grup</b>	<b>Birey Sayısı</b>	<b>AHI</b>
Kontrol	34	<5
Hasta	62	5>
Toplam	96	

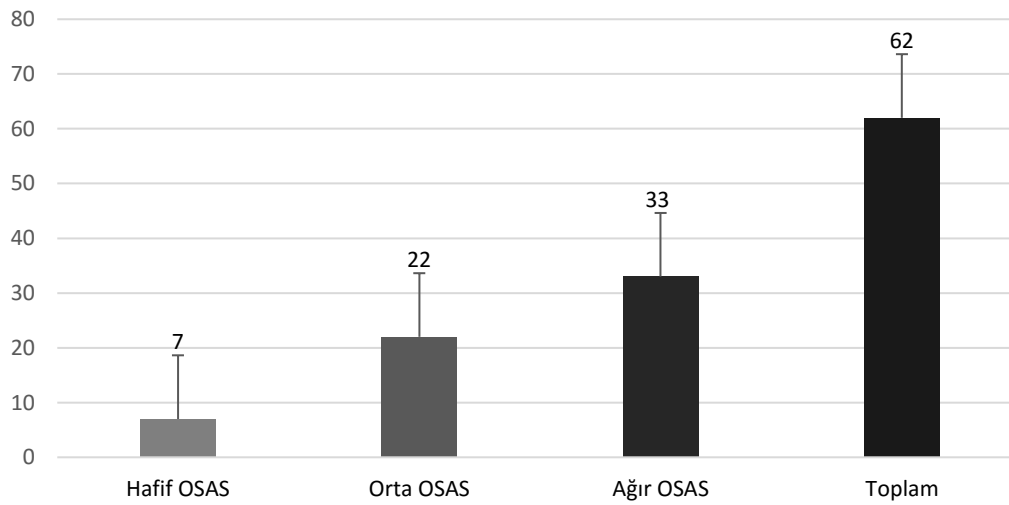


**Grafik 1.** Hasta ve kontrol grubu dağılım grafiği

OSAS hastalığına sahip bireyler hastalığın şiddetine göre gruplandırılmış ve dağılımları grafikte gösterilmiştir (Tablo 8) (Grafik 2).

**Tablo 8.** Hastalığın şiddetine göre oluşturulmuş gruplar

Grup	Birey Sayısı	AHI
Hafif OSAS	7	5-14
Orta OSAS	22	15-30
Ağır OSAS	33	>30
Toplam	62	

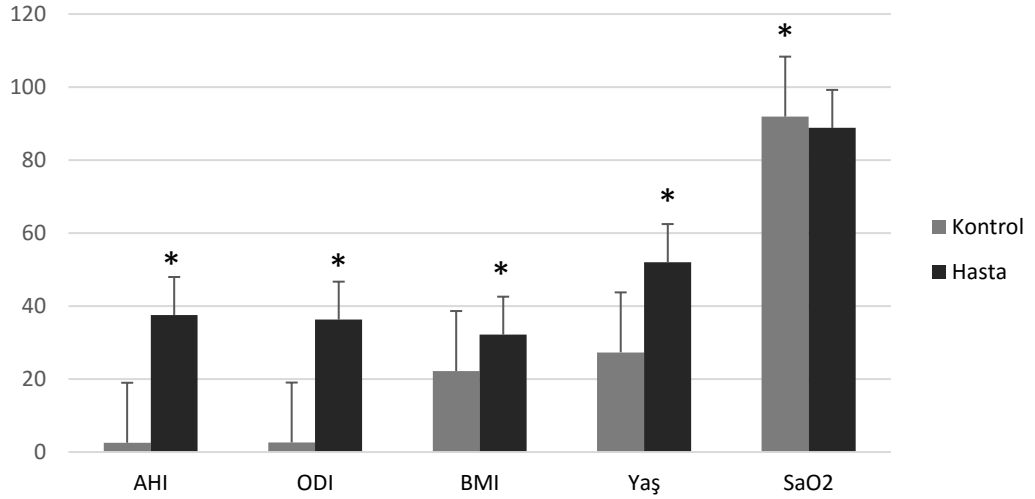


**Grafik 2.** Hastalığın şiddetine göre oluşturulmuş gruplarda dağılım grafiği

Kontrol ve hasta grubunda elde edilen verilerin dağılımı ve istatistiksel analizi tablo ve grafik üzerinde gösterildi (Tablo 9) (Grafik 3).

**Tablo 9.** Kontrol ve hasta grubunun verilerin dağılımı ve istatistiksel analizi

		Sayı	Min-Max	Ortalama	p değeri
BMI	kontrol	34	17-30	22,21 ± 3,02	p<0,05
	hasta	62	22-57	32,16 ± 5,84	
Yaş	kontrol	34	18-52	27,32 ± 9,3	p<0,05
	hasta	62	18-77	52,05 ± 11,4	
ODİ	kontrol	34	1-4	2,62 ± 1,25	p<0,05
	hasta	62	6,27-98	36,27± 22,2	
AHI	kontrol	34	1-4	2,56 ± 1,23	p<0,05
	hasta	62	6-101	37,55 ± 23	
SaO <sub>2</sub>	kontrol	34	88-96	91,9 ± 1,96	p<0,05
	hasta	62	73-95	88,8 ± 4,35	



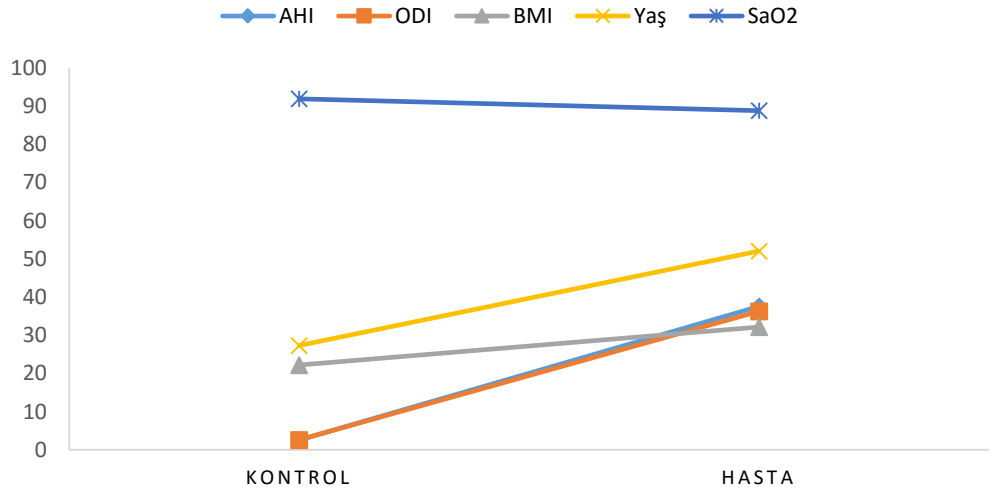
**Grafik 3.** Kontrol ve hasta grubunda verilerinin grafiği  
(\* p<0,05)

Kontrol ve hasta gruplarında AHI, ODI, BMI, SaO<sub>2</sub> ve yaş arasındaki korelasyon analiz sonuçları aşağıdaki gibidir (Tablo 10) (Grafik 4).

**Tablo 10.** Korelasyon analiz sonuçları

		BMI	Yaş	ODİ	AHI	SaO <sub>2</sub>
BMI	r değeri	1,000	0,628 **	,712**	,716**	-,439**
	p değeri	.	0,000	,000	,000	,000
Yaş	r değeri	0,628**	1,000	,656**	,650**	-,386**
	p değeri	0,000	.	,000	,000	,000
ODİ	r değeri	,712**	,656**	1,000	,996**	-,621**
	p değeri	,000	,000	.	,000	,000
AHI	r değeri	,716**	,650**	,996**	1,000	-,614**
	p değeri	,000	,000	,000	.	,000
SaO <sub>2</sub>	r değeri	-,439**	-,396**	-,621**	-,614**	1,000
	p değeri	,000	,000	,000	,000	.

\*\* 0,01 seviyesinde korelasyon anlamlı r: korelasyon katsayısı

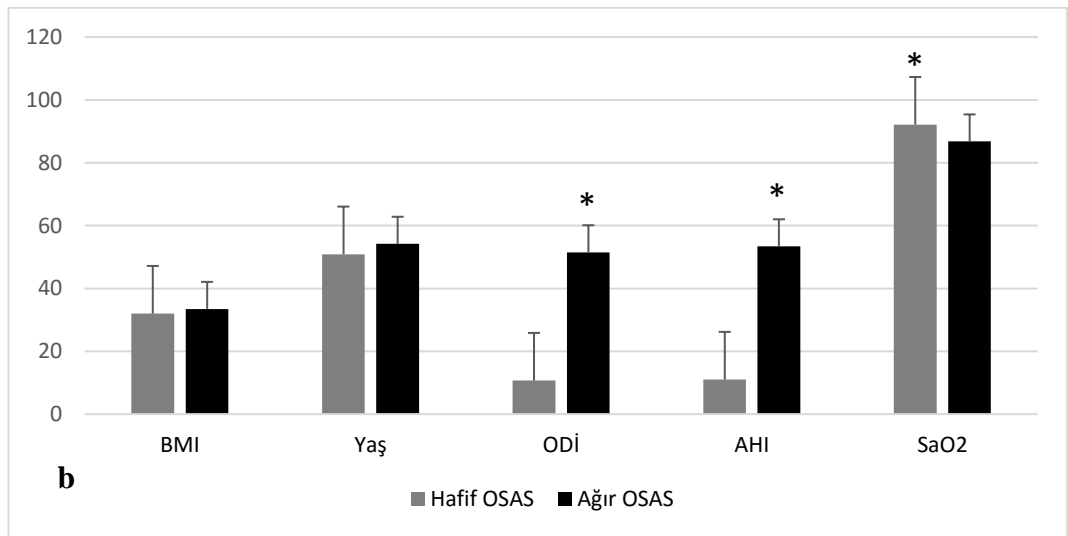
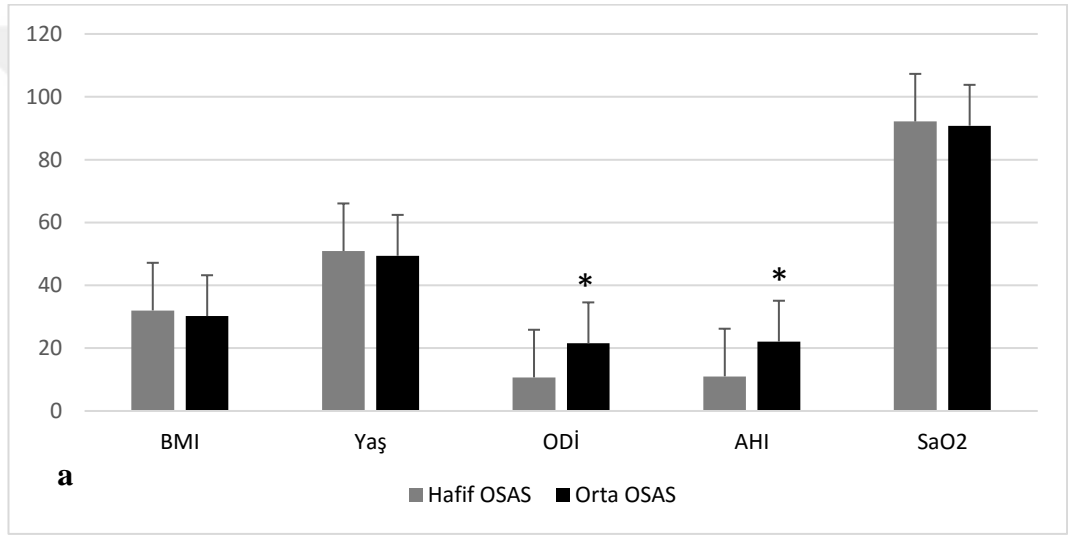


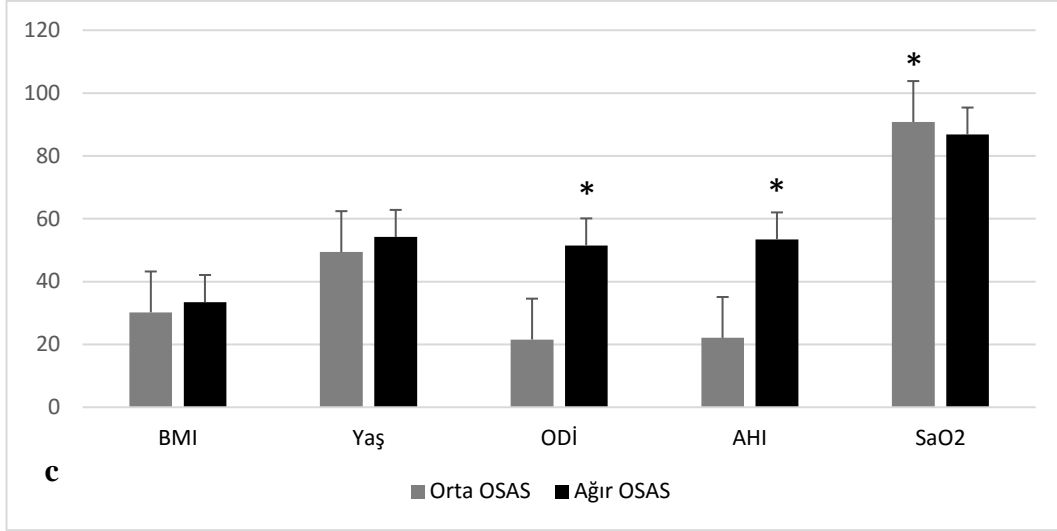
**Grafik 4.** Kontrol ve hasta grubunda korelasyon grafiği

OSAS Hastalığının şiddetine göre verilerin dağılımı ve istatistiksel analizi yapıldı (Tablo 11) (Grafik 5a, b, c).

**Tablo 11.** OSAS Hastalığının şiddetine göre verilerin dağılımı

		BMI	Yaş	ODİ	AHI	SaO <sub>2</sub>
Hafif OSAS	Min-Max	22,8-57	18-70	6,27-15,70	6-16,4	90-95
	Ortalama	32,0 ± 11,3	50,9 ± 17,2	10,69 ± 3,7	11,02 ± 4,0	92,14 ± 2,0
Orta OSAS	Min-Max	23,9 ± 39,5	31-68	16-29,3	16,3-29,8	86-95
	Ortalama	30,2 ± 3,7	49,4 ± 9,2	21,55 ± 3,6	22,08 ± 4,0	90,8 ± 2,4
Ağır OSAS	Min-Max	23,9-44	34-77	27,6-98	10,3-101,4	73-92
	Ortalama	33,48 ± 5,2	54,2 ± 11,3	51,5 ± 19,9	53,4 ± 92,4	86,78 ± 4,7





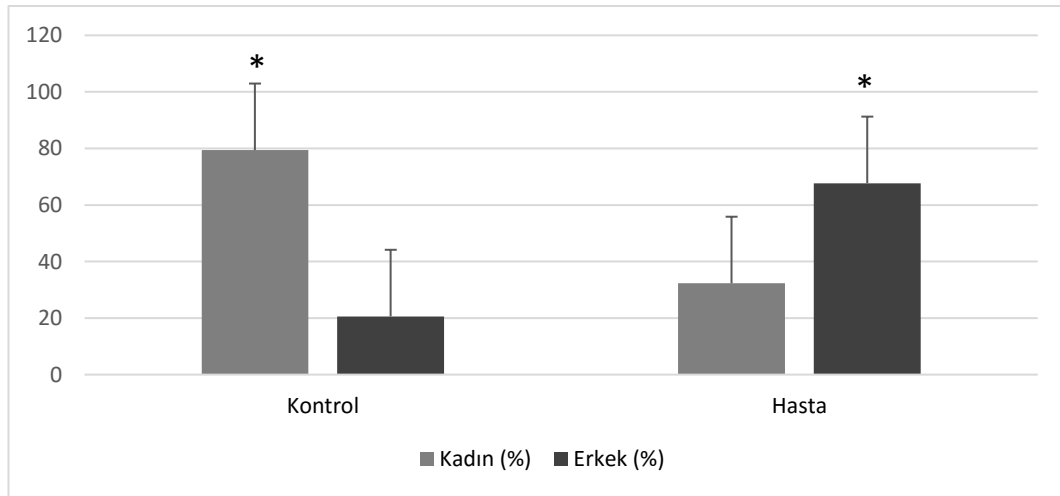
**Grafik 5a, b, c.** OSAS hastalığının şiddetine göre verilerin istatistiki grafikleri (\* p<0,05)

Kontrol ve hasta grubunda cinsiyet açısından istatistiki bir fark olup olmadığına bakıldı (Tablo 12) (Grafik 6). Ayrıca OSAS hastalığının şiddetine göre yapılan gruplandırma istatistiki açıdan değerlendirildi (Tablo 13) (Grafik 7).

**Tablo 12.** Kontrol ve hasta grubunda cinsiyet dağılımı

Cinsiyet	Kadın (%)	Erkek (%)
Kontrol	27 (79,4)*	7 (20,6)
Hasta	20 (32,3)	42 (67,7)*
Toplam	47 (49)	49 (51)

\* p<0,05

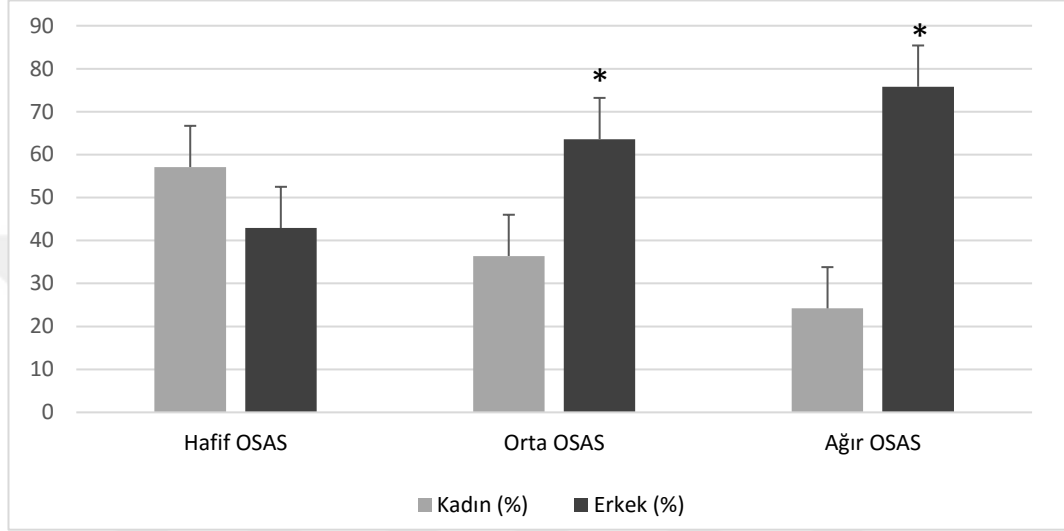


**Grafik 6.** Kontrol ve hasta grubunda cinsiyet dağılımı (\* p<0,05)

**Tablo 13.** OSAS hastalığının şiddetine göre cinsiyet dağılımı

Cinsiyet	Kadın (%)	Erkek (%)
Hafif OSAS	4 (57,1)	3 (42,9)
Orta OSAS	8 (36,4)	14 (63,6)*
Ağır OSAS	8 (24,2)	25 (75,8)*

\* İstatistiksel olarak anlamlı



**Grafik 7.** OSAS hastalığının şiddetine göre cinsiyet dağılımı (\* p<0,05)

HLA-DRB1 lokusunun Hardy-Weinberg Analiz sonucu aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (Tablo 14).

**Tablo 14.** Hardy-Weinberg Analizi

LOKUS	HeObs	HeExp	P-value	SD
HLA-DRB1	0.86458	0.85864	0.00327	0.00005

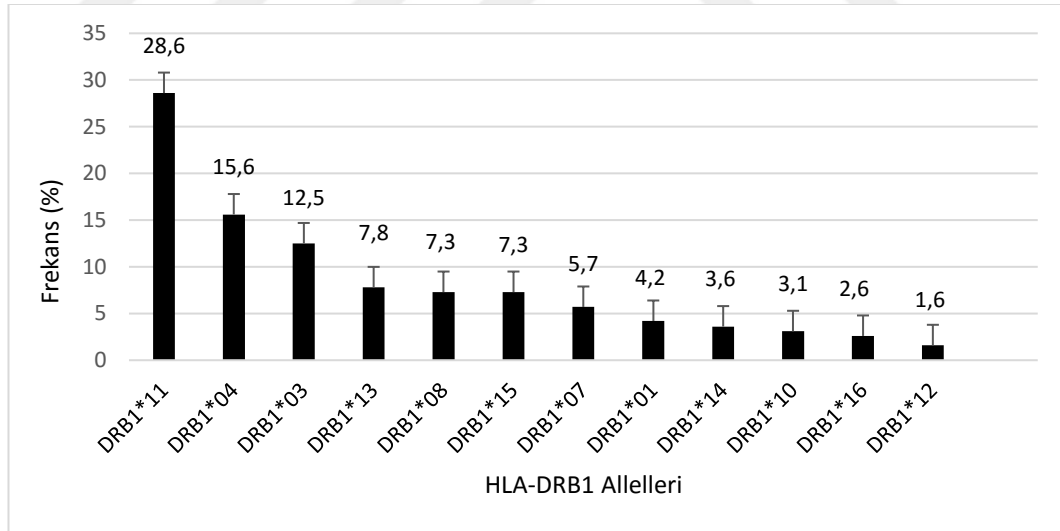
HeObs: Gözlenen heterozigotluk HeExp: Beklenen heterozigotluk P-value: Önem değeri SD: Standart sapma

Kontrol ve OSAS hastalarında HLA-DRB1 lokusunda gözlenen 12 farklı allelin frekansları tablo 15 ve grafik 8'de gösterilmiştir.



**Tablo 15.** HLA-DRB1 lokusunda görülen allellerinin frekansları

HLA-DR	FREKANS (%)
DRB1*11	28,6
DRB1*04	15,6
DRB1*03	12,5
DRB1*13	7,8
DRB1*08	7,3
DRB1*15	7,3
DRB1*07	5,7
DRB1*01	4,2
DRB1*14	3,6
DRB1*10	3,1
DRB1*16	2,6
DRB1*12	1,6



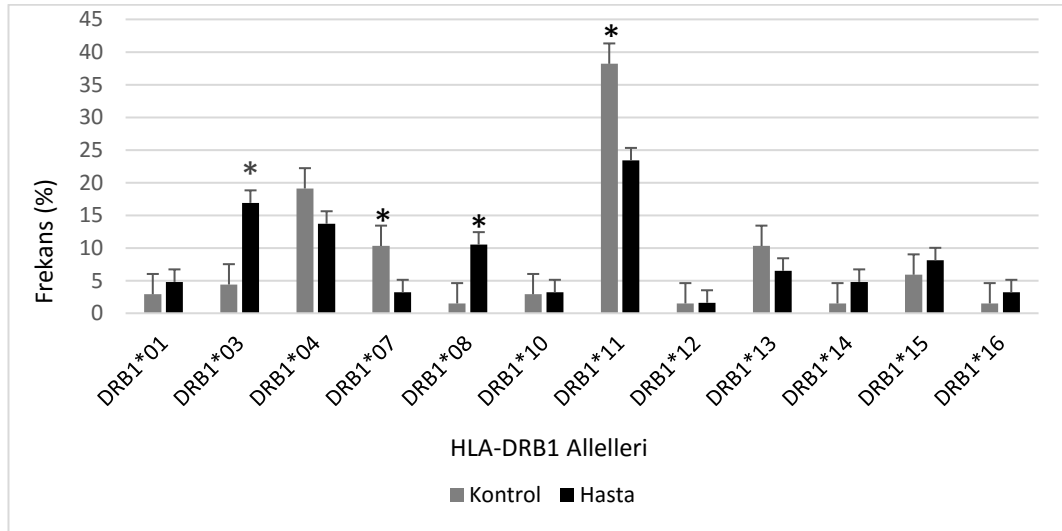
**Grafik 8.** HLA-DRB1 lokusunda görülen allellerinin frekanslarının dağılımı

OSAS hasta ve kontrol grubunda görülen HLA-DRB1 allel frekansları aşağıdaki tablo ve grafik üzerinde gösterilmiştir. HLA-DRB1 allel frekansları MHC-HLA allellerinin kalıtım paterninden dolayı hem hasta hem de kontrollerde "2n" düzeyinde verilmiştir. (Tablo 16) (Grafik 9).

**Tablo 16.** Hasta ve kontrol grubunda HLA-DRB1 allel frekanslarının dağılımı

		OSAS (2n= 124)		Kontrol (2n= 68)		İstatistiksel analiz	
HLA-DR	n	F (%)	n	F (%)	OR-(95% CI)	p-value	
DRB1*01	6	4,8	2	2,9	1.71 (0.32-9,00)	0.707	
DRB1*03	21	16,9	3	4,4	5.29 (1,44-19,35)	0.012*	
DRB1*04	17	13,7	13	19,1	0.61 (0.25-1,48)	0.386	
DRB1*07	4	3,2	7	10,3	0.27 (0.07-0,98)	0.048*	
DRB1*08	13	10,5	1	1,5	8.75 (1.09-70,1)	0.030*	
DRB1*10	4	3,2	2	2,9	1.10 (0,19-6,35)	1	
DRB1*11	29	23,4	26	38,2	0.27 (0,10-0,68)	0.005*	
DRB1*12	2	1,6	1	1,5	1.1 (0.09-12,5)	1	
DRB1*13	8	6,5	7	10,3	0.57 (0,18-1,74)	0.382	
DRB1*14	6	4,8	1	1,5	3.53 (0.40-30,6)	0.415	
DRB1*15	10	8,1	4	5,9	1.44 (0.41-5,00)	0.764	
DRB1*16	4	3,2	1	1,5	2.27 (0.24-21,2)	0.652	

n: sayı, F: frekans



**Grafik 9.** Hasta ve kontrol grubunda HLA-DRB1 allel frekanslarının dağılımı (\* p<0,05)

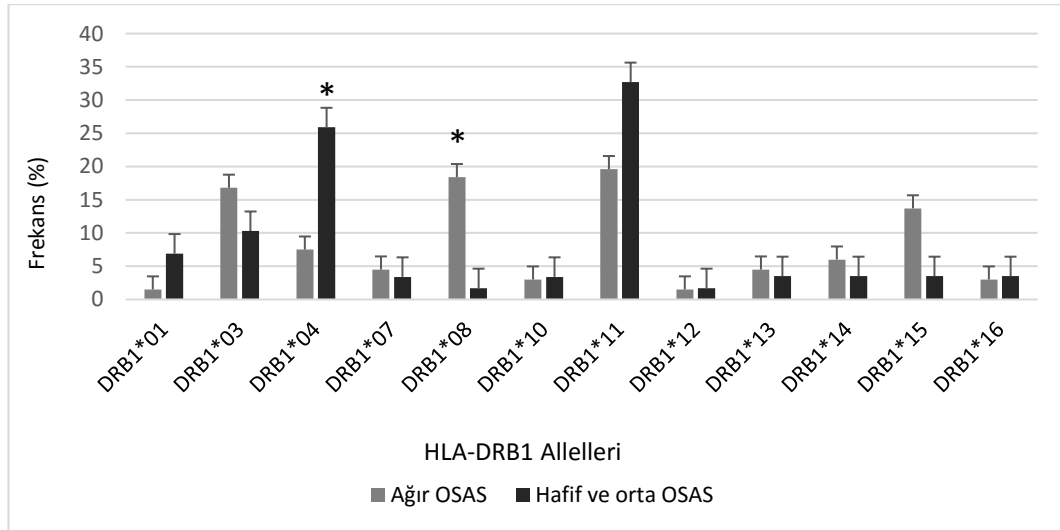
Şiddetine göre belirlenen hafif, orta ve ağır OSAS hastalarının karşılaştırılması sonucunda OSAS şiddeti ve allel ilişkisini gösteren tablo ve grafik aşağıda

gösterilmiştir. Hafif OSAS hasta sayısı az olduğundan değerlendirmede hafif ve orta OSAS hastaları ağır OSAS hastaları ile karşılaştırıldı. (Tablo 17) (Grafik 10).

**Tablo 17.** Hastalığın şiddetine göre HLA-DRB1 allel frekanslarının dağılımı

HLA-DR	Ağır OSAS (2n = 66)		Hafif & Orta OSAS (2n = 58)		İstatistiksel analiz	
	n	F (%)	n	F (%)	OR-(95% CI)	p-value
DRB1*01	1	1,5	5	6,9	0.16 (0.02-1,46)	0.097
DRB1*03	11	16,8	10	10,3	0.96 (0.37-2,45)	1
DRB1*04	5	7,5	12	25,9	0.31 (0.10-0,95)	0.039*
DRB1*07	3	4,5	1	3,4	2.7 (0.27-26.8)	0.622
DRB1*08	12	18,4	1	1,7	12.7 (1.59-100)	0.002*
DRB1*10	2	3,0	2	3,4	0,87 (0,11-6,42)	1
DRB1*11	13	19,6	16	32,7	0.64 (0,27-1,48)	0.395
DRB1*12	1	1,5	1	1,7	0,87 (0,05-14,3)	1
DRB1*13	3	4,5	5	3,5	0.50 (0,11-2,21)	0.471
DRB1*14	4	6,0	2	3,5	1.74 (0,30-9,9)	0.686
DRB1*15	9	13,7	1	3,5	9,0 (1.10-73,3)	0.019
DRB1*16	2	3,0	2	3,5	0.87 (0,11-6,4)	1

n: sayı, F: frekans

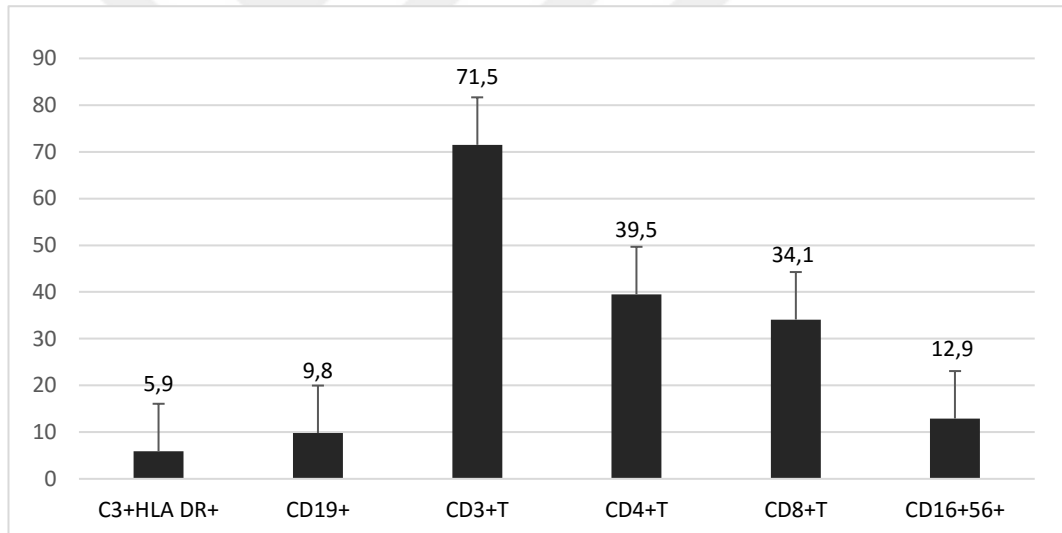


**Grafik 10.** Hastalığın şiddetine göre HLA-DRB1 allel frekanslarının grafiği (\* p<0,05)

OSAS ve immün sistem ilişkisinde lenfosit alt gruplarına; CD19+ B lenfosit, CD3+T lenfosit, CD4+T lenfosit, CD8+T lenfosit, CD16+/CD56+(NK) ve CD3+/HLA DR+'ye bakıldı (Tablo 18) (Grafik 11).

**Tablo 18.** Çalışmaya katılan 96 bireyin lenfosit alt gruplarının özellikleri

	Sayı	Minimum	Maksimum	Ortalama-SD
C3+HLA DR+	96	0,31	22,63	5,9 ± 4,8
CD19+	96	2,17	20,21	9,8 ± 3,6
CD3+T	96	50,04	86,72	71,5 ± 6,7
CD4+T	96	29,39	55,86	39,5 ± 5,9
CD8+T	96	18,63	54,05	34,1 ± 6,9
CD16+56+	96	3,25	50,64	12,9 ± 6,5



**Grafik 11.** Çalışmaya katılan 96 bireyin lenfosit alt gruplarının özellikleri

OSAS hastalığında lenfosit alt gruplarının AHI ve birbiri ile ilişkileri korelasyon analizine bakılarak değerlendirildi (Tablo 19).

**Tablo 19.** Lenfosit alt gruplarının korelasyon analizi sonuçları

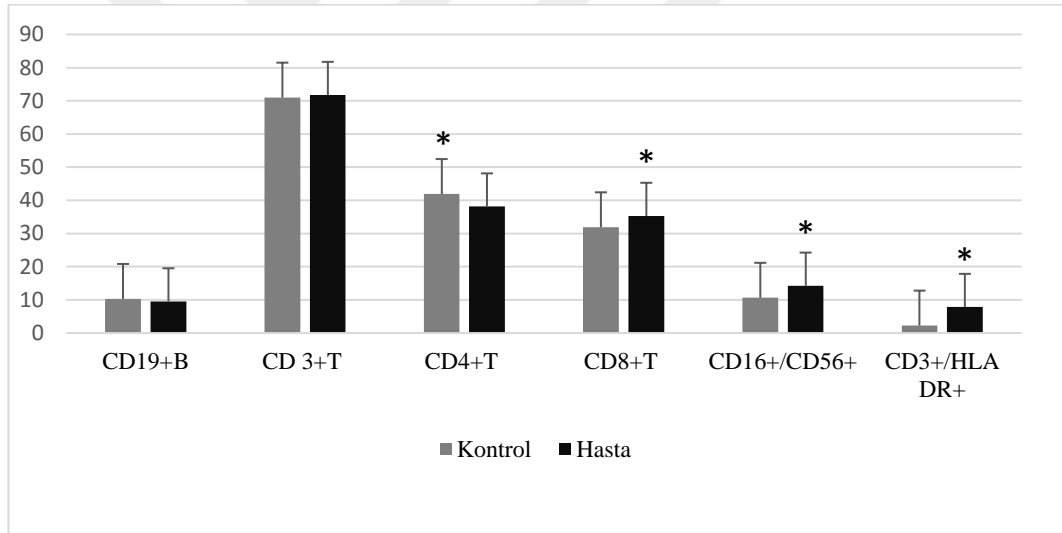
		<b>C3+HLA DR+</b>	<b>CD19+B</b>	<b>CD3+T</b>	<b>CD4+T</b>	<b>CD8+T</b>	<b>CD16+56+</b>	<b>AHI</b>
C3+HLA DR+	r	1	-,064	,073	-,227*	,256*	,253*	,412**
	p		,537	,481	,026	,012	,013	,000
CD19+B	r	-,064	1	-,161	,042	-,282**	-,334**	-,218*
	p	,537		,118	,687	,005	,001	,033
CD3+T	r	,073	-,161	1	,054	,292**	-,323**	,072
	p	,481	,118		,603	,004	,001	,483
CD4+T	r	-,227*	,042	,054	1	-,617**	-,161	-,366**
	p	,026	,687	,603		,000	,116	,000
CD8+T	r	,256*	-,282**	,292**	-,617**	1	,123	,352**
	p	,012	,005	,004	,000		,233	,000
CD16+56+	r	,253*	-,334**	-,323**	-,161	,123	1	,261*
	p	,013	,001	,001	,116	,233		,010
AHI	r	,412**	-,218*	,072	-,366**	,352**	,261*	1
	p	,000	,033	,483	,000	,000	,010	

\*\* 0,01 ve \* 0,05 seviyesinde korelasyon anlamlı r: korelasyon katsayısı

Lenfosit alt gruplarına ait immün sistem parametrelerinin kontrol ve hasta grubunda istatistiksel analiz sonuçları aşağıdaki tabloda verilmiş ve grafik üzerinde gösterilmiştir (Tablo 20) (Grafik 12).

**Tablo 20.** Kontrol ve hasta grubunda immün sistem parametrelerinin analizi

Lenfosit alt grupları		Kontrol (n=34)	Hasta (n=62)	p değeri
CD19+B lenfosit	Ortalama	10,3 ± 3,3	9,5 ± 3,8	0,600
	Min-Max	4,6-19,6	2,2-20,2	
CD3+T lenfosit	Ortalama	70,9 ± 6,5	71,8 ± 7,3	0,341
	Min-Max	55,8-85,8	50,0-86,7	
CD4+T lenfosit	Ortalama	41,91	38,14	0,002*
	Min-Max	29,39-50,47	29,51-55,86	
CD8+T lenfosit	Ortalama	31,9 ± 6,9	35,3 ± 6,7	0,02*
	Min-Max	21,2-54,0	18,6-45,5	
CD16+/CD56 (NK)	Ortalama	10,6 ± 3,7	14,3 ± 7,4	0,004*
	Min-Max	3,2-17,8	5,9-50,6	
CD3+/HLA DR+	Ortalama	2,3 ± 1,7	7,9 ± 4,8	0,000*
	Min-Max	0,3-6,6	0,7-22,6	

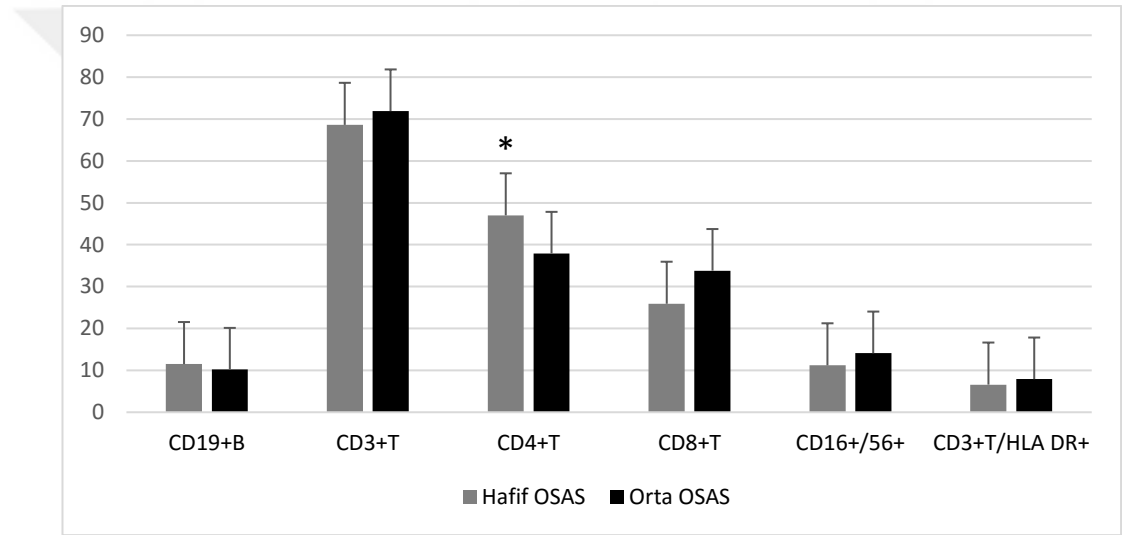


**Grafik 12.** Kontrol ve hasta gruplarında lenfosit alt gruplarının analiz grafiği (\*p<0,05)

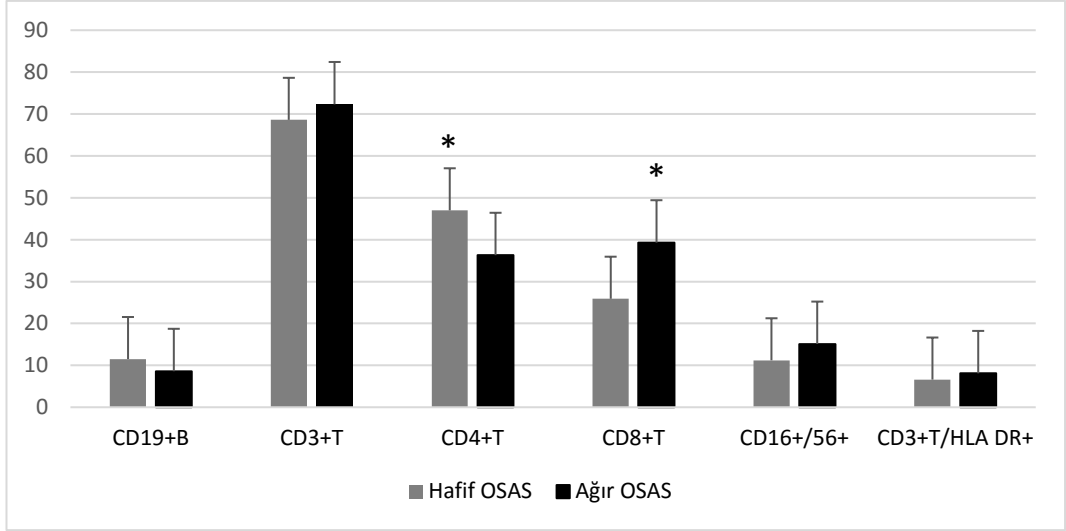
Lenfosit alt gruplarına ait immün sistem parametrelerinin OSAS hastalığının şiddetine göre oluşturulmuş olan gruplarda özellikleri ve istatistiksel analizleri aşağıdaki grafiklerde gösterilmiştir (Tablo 21) (Grafik 13, 14 ve 15).

**Tablo 21.** Hastalığın şiddetine göre immün sistem hücrelerinin özellikleri

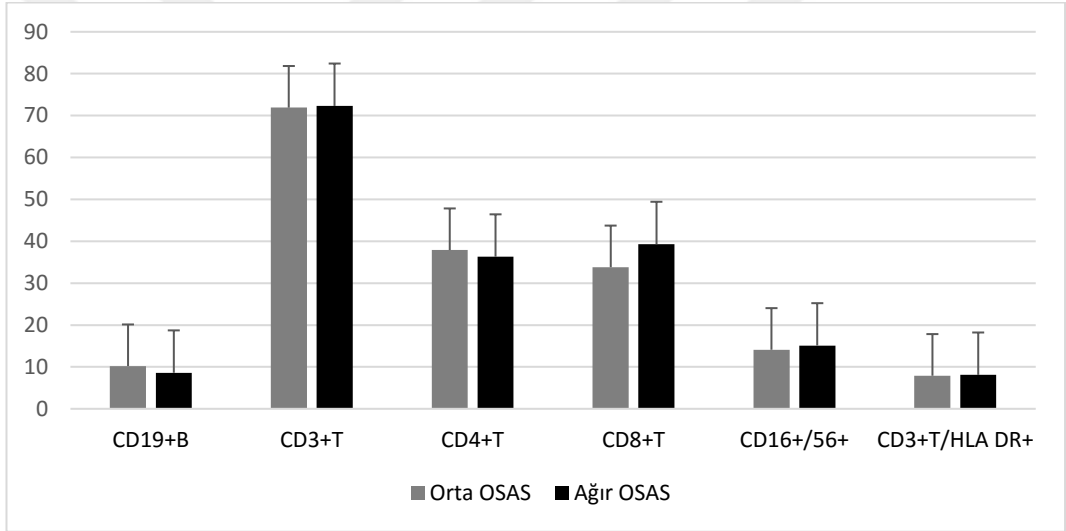
		<b>CD19+B</b>	<b>CD3+T</b>	<b>CD4+T</b>	<b>CD8+T</b>	<b>CD16+/ CD56+</b>	<b>CD3+/ HLA DR+</b>
Hafif OSAS	Min-Max	4,6-20,2	61,6-79,9	31,2-55,9	18,6-39,0	5,9-19,6	3,9-9,1
	Ortalama	11,5±5,4	68,6 ± 6,3	47,0 ± 7,6	25,9 ± 6,5	11,2 ± 6,1	6,6 ±1,8
Orta OSAS	Min-Max	5,7-18,3	50,0-83,7	29,8-45,9	19,6-45,5	6,3-50,6	0,92-22,6
	Ortalama	10,2±3,7	71,9 ± 7,1	37,9 ± 4,5	33,8 ± 7,3	14,1 ± 8,9	7,9 ±6,2
Ağır OSAS	Min-Max	2,2-14,5	54,3-86,7	29,5-47,2	31,6-45,0	6,4-38,3	0,74-17,8
	Ortalama	8,6±3,4	72,3 ± 7,5	36,3 ± 3,9	38,3 ± 3,4	15,1 ± 6,5	8,1 ±4,1



**Grafik 13.** Hafif ve orta OSAS hastalarının istatistiksel grafiği (\*p<0,05)



**Grafik 14.** Hafif ve ağır OSAS hastalarının istatistiksel grafiği (\*p<0,05)



**Grafik 15.** Orta ve ağır OSAS hastalarının istatistiksel grafiği

Allellerin kontrol ve hasta grupları arasında immün sistem elemanları üzerine etkisi istatistiksel olarak değerlendirildi (Tablo 22 ve 23 ).



**Tablo 22.** Kontrol ve hasta gruplarında lenfosit alt gruplarına allellerin etkisi

	<b>F</b>	<b>p değeri</b>
CD3+T lenfosit	,526	,472
CD19+B lenfosit	1,371	,248
CD4+T lenfosit	1,178	,283
CD8+T lenfosit	3,067	,087
CD16+56+	,042	,838
CD3+HLA DR+	,232	,632

**Tablo 23.** Hastalığının şiddetine göre oluşturulmuş olan gruplara allellerin etkisi

	<b>F</b>	<b>p değeri</b>
CD3+T lenfosit	,910	,347
CD19+B lenfosit	1,095	,303
CD4+T lenfosit	,083	,775
CD8+T lenfosit	2,645	,113
CD16+56+	,101	,753
CD3+HLA DR+	2,953	,095

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada Şubat 2017-Kasım 2017 tarihleri arasında Süleyman Demirel Üniversitesi Hastanesi ve Isparta Şehir Hastanesi Göğüs Hastalıkları Polikliniğine başvuran ve OSAS şüphesi olan bireyler bir gece uyku laboratuvarında yatırılarak polisomnografi cihazı ile ölçümleri yapıldı. Yapılan bu ölçümler sonucunda elde edilen veriler incelenerek OSAS hastası olup olmadıkları değerlendirildi. PSG öncesi cinsiyet, yaş ve BMI değerleri kaydedildi ve PSG ile yapılan ölçümlerden elde edilen AHI, ODİ ve SaO<sub>2</sub> değerleri belirlendi.

AHI'si belirlenmiş olan 96 kişinin 34'ü kontrol ve 62'si hasta olarak gruplandırıldı. Hasta grubunda bulunan bireyler OSAS hastalığının şiddetine göre 7 hafif, 22 orta ve 33'ü ağır OSAS olmak üzere üç gruba ayrıldı. Orta ve ağır OSAS hastalarının hafif OSAS hastalarına göre fazla olmasının sebebinin bireylerin hastalığın semptomları arttıktan sonra polikliniğe başvurmaları olabileceği düşünüldü.

OSAS hastalığında en belirgin risk faktörlerinin obezite ve erkek cinsiyet olduğu yapılan çalışmalarla belirlenmiştir (47).

Obezite artışıyla OSAS görülme sıklığının arttığı birçok çalışmada ortaya konulmuştur (113-115). WHO kriterlerine göre BMI < 18,5 normalden hafif, BMI 18,5–24,9 normal, BMI 25–29,9 aşırı kilolu ve BMI > 30 obez olarak sınıflandırılır (116, 117). OSAS riski BMI >29,9 olanlarda 8-12 kat artmaktadır. BMI >40 olan morbid obezlerde bu risk daha da yüksek olduğu ve kilo kaybı ile OSAS belirtilerinin azaldığı belirlenmiştir (118, 119). Gami ve ark. 2003 yılında yayınlamış oldukları makalede obezitenin OSAS için çok güçlü bir risk faktörü olduğunu vurgulamışlardır (120). Schwartz ve arkadaşlarının 2008 yılında yapmış olduğu çalışmada obezitenin ve özellikle santral obezitenin OSAS için önemli bir risk faktörü olduğu ortaya konulmuştur (118). 2010 yılında Romero ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada ise kilo kaybının OSAS'ın görülme sıklığını azalttığı belirtilmiştir (119). Türkiye'de OSAS hastalarında yapılan çalışmada BMI ortalamasının 33.1 olduğu bulunmuştur (121). 2010 yılında Ayık ve ark. tarafından yapılan OSAS ve obezite arasındaki ilişkiye dair yapılan çalışmada BMI >30 olan olgularda ağır OSAS'ın görülme sıklığının oldukça yüksek olduğu bulunmuştur (122). Ertekin ve ark. 2015 yılında

yayınlanmış oldukları derlemede obezitenin OSAS'la ilişkisi açıkça vurgulanmıştır (123).

Çalışmamızda kontrol grubunun BMI ortalamasını  $22,2 \pm 3,02$  bulurken hasta grubunun ortalamasını ise  $32,2 \pm 5,8$  olarak bulduk. OSAS hastalığının şiddetine göre oluşturulan gruplarda ise BMI sonuçlarını hafif OSAS  $32,0 \pm 3,72$  orta OSAS  $30,2 \pm 3,72$  ve ağır OSAS hastalarında  $33,5 \pm 5,25$  olarak bulduk. AHI ve BMI ilişkisinin korelasyon analizi sonucunda AHI artışı ile BMI artışının korele bir şekilde anlamlı olarak arttığını tespit ettik. İstatistiksel analiz sonucunda kontrol ve hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulduk. OSAS hastalığın şiddetine göre oluşturulmuş olan gruplarda BMI'yi değerlendirdiğimizde ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamadık. Bulgularımız literatürle uyumlu olarak vücut kitle indeksinin artışının OSAS hastalığı ile ilişkisini net olarak ortaya koymuştur.

Literatür araştırmalarımız sonucunda OSAS prevalansının ortalama olarak erişkin kadınlarda %2-5, erkeklerde ise %3-7 olarak kabul edildiğini gördük (4). 2000 yılında popülasyon temelli yapılan bir çalışmada 6132 kişi üzerinde tarama yapılmış ve OSAS tanısı alan olguların %37 sinin kadın %63'ünün erkek olduğu bildirilmiştir (124). Cinsiyetin OSAS'ın şiddeti üzerine etkisini araştıran diğer bir çalışmada ağır OSAS'lı hastalarda erkeklerin oranının önemli derecede fazla olduğu bulunmuştur (207). Christine ve ark. OSAS'ta cinsiyet farklılıkları üzerine yapmış oldukları çalışmada erkek cinsiyetin risk faktörü olduğunu ortaya koymuşlardır (125). Eroğlu ve Kuyucu tarafından 2013 yılında yapılan çalışmada erkek cinsiyetin OSAS hastalarında önemli derecede yüksek olduğu fakat OSAS'ın şiddetine göre oluşturulan gruplarda bir fark bulamadığı ifade edilmiştir (126). Bu araştırmalar OSAS'ın kadınlara göre erkeklerde 2-3 kat daha fazla görüldüğünü ortaya koymaktadır.

Çalışmamız sonucunda OSAS'lı hastalarda erkeklerin oranını %67,7 kadınların oranını ise %32,3 olarak bulduk. OSAS'ın şiddetine göre erkek ve kadın oranlarını ise hafif OSAS erkek %42,9 kadın %57,1, orta OSAS erkek %63,6 kadın %36,4 ve ağır OSAS'lı hastalarda erkek %75,8 kadın %24,2 olarak bulduk. Bu sonuçlar literatürlerle uyumlu olarak OSAS hastalığının erkeklerde daha sık görüldüğünü ortaya koydu.

OSAS sıklığı her iki cinsiyette de yaşla birlikte artmaktadır (127). Fidan ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada yaş ortalaması 48,4 Teschler ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise yaş ortalaması 52 olarak belirlenmiştir (128, 129). Eroğlu ve Kuyucu tarafından 2013 yılında yapılan çalışmada yaş faktörü kontrol ve hasta grubu karşılaştırıldığında hasta grubunda önemli derecede yüksek olduğunu fakat OSAS'ın şiddetine göre oluşturulan gruplarda bir fark bulunmadığını ifade etmişlerdir (126).

Çalışmamızda, literatürlere uygun olarak OSAS hastalarında AHI ve yaş faktörünün birlikte artan güçlü bir ilişkiye sahip olduklarını korelasyon analizi sonucunda belirledik. Yaş ortalaması kontrol grubunda  $27,32 \pm 9,3$  hasta grubunda ise  $52,05 \pm 11,4$  olarak bulduk ve sonucun istatistiksel olarak anlamlı olduğunu belirledik. OSAS hastalığının şiddetine göre oluşturulmuş olduğumuz gruplarda ise hafif OSAS  $50,9 \pm 17,2$  orta OSAS  $49,4 \pm 9,2$  ve ağır OSAS'da  $54,2 \pm 11,3$  bulduk ve istatistiksel değerlendirmede bu gruplar arasında fark bulamadık. Bu sonuçlar bize OSAS hastalığının yaşla birlikte artış gösterdiğini ortaya koymuştur.

Willis ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada AHI ve ODİ'nin birlikte artış gösterdiği belirtilmiştir (130). Bizim çalışmamızda da ODİ ve AHI uyumlu bir şekilde artış gösterdi. Kontrol, hasta ve OSAS'ın şiddetine göre oluşturulmuş olan gruplarda yapmış olduğumuz istatistiksel analiz sonucunun da anlamlı olduğunu bulduk.

Literatürlerde SaO<sub>2</sub> değerlerini araştırdığımızda OSAS hastalarında bu değerinin apne-hipopnelere bağlı olarak düştüğü belirledik (131). Hawrylkiewicz ve ark. 2004 yılında yapmış oldukları çalışmada OSAS hastalarında SaO<sub>2</sub>'nin anlamlı derecede düşük olduğunu bulmuşlardır (132). Çalışmamızda OSAS'lı hastalarda oksijen satürasyon değerleri incelendiğinde SaO<sub>2</sub><90 bulduk. AHI ve SaO<sub>2</sub> arasındaki korelasyona baktığımızda güçlü bir negatif ilişki olduğunu tespit ettik. Oksijen satürasyonunu, kontrol ve hasta grubu açısından istatistiksel olarak değerlendirdiğimizde oksijen satürasyon değerlerinin anlamlı olarak düştüğünü belirledik. Hastalığın şiddetine göre oluşturduğumuz gruplarda SaO<sub>2</sub>'yi değerlendirildiğinde ise ağır OSAS hastalarında hafif ve orta OSAS hastalarına göre anlamlı bir düşüş tespit ettik.

Kalıtısal denge yasası veya genetik denge yasası olarak bilinen Hardy-Weinberg dengesinin temeli; mutlak, rastgele eşleşen bir grupta göç, mutasyon seçilim veya genetik sürüklenmenin olmadığı durumda genomda genotip frekansı ve lokusdaki gen frekansının Hardy-Weinberg dengesi olarak bilinen genetik denge durumuna ulaşarak nesilden nesile değişmeden kalacağı şeklindedir. Çalışmamızda HLA-DRB1 lokusunda bulunan toplam 192 allel verisi esas alınarak Hardy-Weinberg dengesi hesaplandığında dengede olduğunu belirledik.

Yaptığımız literatür taramalarında Türkiye popülasyonunda en sık görülen HLA-DRB1 allel frekansları; Saruhan ve arkadaşlarının 250 kişide yapmış olduğu çalışmada HLA-DRB1\*11, DRB1\*03 ve DRB1\*07, Erikoğlu ve ark. 362 kişide yapmış olduğu çalışmada HLA-DRB1\*11, DRB1\*04 ve DRB1\*13, Kayhan ve ark. 408 diyaliz hastasında yapmış olduğu çalışmada HLA-DRB1\*11, DRB1\*04 ve DRB1\*13 ve Soyöz ve ark. 450 bireyden oluşan HLA-ABO kan grupları ilişkisinde dair yapmış oldukları çalışmada DRB1\*11, DRB1\*04, DRB1\*15 ve DRB1\*03 olarak belirlenmiştir (133-136).

Yapmış olduğumuz çalışmada 96 bireyin HLA-DRB1 allelleri 192 allel üzerinden değerlendirdiğimizde DRB1\*11, DRB1\*04 ve DRB1\*03 allel frekanslarının yapılan çalışmalarda olduğu gibi daha sık bulunduğunu tespit ettik.

HLA polimorfizmleri ile uyku bozuklukları arasındaki ilişkinin ilk tanımı 1983 yılında Japon hastalarda bildirilmiş ve narkolepsi ile HLADR2 arasında bir bağlantı olduğu ortaya konulmuştur (137). Narkolepsi hastalarında 1994 ve 2014 yılında yapılan çalışmalar HLA-DQB1\*06:02 allelinin HLADR2 antijeninden daha iyi bir marker olduğunu ortaya koymuştur (138, 139). Uyku bozuklukları arasında en sık görülen OSAS hastalığı ve HLA allelleriyle ilişkin çalışmalar 2005 yılında Brunetti ve ark. Güney İtalya Popülasyonun'da HLA-A\*33, DRB1\*03 ve DQB1\*02 allellerinin OSAS hastalığına sahip bireylerde daha sık görüldüğünü yayınlamaları ile başlamış fakat istatistiksel olarak yapılan Bonferroni'nin çoklu test düzeltilmesinden sonra önemi azalmıştır (140). 2005 yılında Lee ve ark. OSAS ve HLA allelleri ile ilişkisine dair Koreli hastalar üzerinde yapmış olduğu çalışmada OSAS ile HLA-A\*11 ve DRB1\*09 allelleri arasında bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur. Bu çalışma sonucunda OSAS hastalarında HLA-A\*11 allelini daha düşük olduğunu HLA-DRB1\*09 allelinin ise

anlamli derecede yuiksek olduğunu ayrıca hastalığın Şiddetinin HLA-DRB1\*08 alleli ile ilişkili olduğunu belirtmiŐlerdir (141). Silva ve ark. 2015 yılında Güney Portekiz’de yapmış oldukları çalışmada HLA-DRB1\*03 allelinin OSAS hastalığıyla ilişkisi olabileceğini belirtilmiŐlerdir. Türkiye’de OSAS ve HLA-DR allel ilişkisinin değerlendirilmesi ile ilgili çalışma 2003 yılında Alzafer ve ark. tarafından yapılmış ve bu çalışmada HLA-DR\*15 alleli OSAS hastalarında yuiksek bulunmuştur (142).

OSAS ve HLA-DRB1 allellerine ilişkin çalışmamızda kontrol ve OSAS hasta grubunu karşılaştırdığımızda HLA-DRB1\*03 allelinin OSAS hasta grubunda daha sık görüldüğünü kontrol grubunda ise HLA-DRB\*07 ve HLA-DRB\*11 allellerinin anlamli olarak yuiksek olduğunu tespit ettik. Hastalığın Şiddetine göre gruplandırarak yapmış olduğumuz karşılaştırmada ise ağır OSAS hastalarında HLADRB1\*08 allelinin anlamli derecede yuiksek olduğunu bulduk ve bu sonucun 2005 yılında Lee ve ark. tarafından yapılan çalışma ile uyumlu olduğunu tespit ettik.

OSAS ve immün sistem ilişkisine dair L. Dyugovskaya ve ark. 2005 yılında yapmış olduğu çalışmada OSAS hastalarında CD4+T ve CD8+ T lenfosit ayrıca NK reseptörü CD16+56+’nın artmış olduğunu ve CD8+T lenfosit artışının OSAS’ın Şiddeti ile ilişkili olduğunu ifade etmişlerdir (143). Bergeron ve ark. 2005 yılında yapmış olduğu çalışmada OSAS hastalarının üst solunum yolu mukozasında CD4+/CD8+T lenfosit oranını CD8+T lenfosit lehine bozulduğunu ortaya koymuşlardır (144). Joanna Domagala ve arkadaşlarının 2015 yılında yapmış oldukları çalışmada OSAS hastalarında kontrole göre CD19+B ve CD4+T lenfosit hücrelerini anlamli olarak azalmış bulurken, CD8+T lenfosit, CD16+/CD56+ hücrelerinin ve CD3+/HLA DR+ antijeninin artmış olduğunu bulmuşlardır (18).

Çalışmamızda AHI ve lenfosit alt grup hücreleri arasında korelasyon analizi yaptık. AHI ile C3+HLA DR+ ve CD8+T hücreleri arasında pozitif yönde güçlü bir ilişki tespit ederken, CD4+T lenfosit arasında güçlü bir negatif ilişki ve CD19+B lenfosit arasında orta negatif ilişki tespit ettik. Kontrol ve OSAS hasta grubunu istatistiksel olarak karşılaştırdığımızda CD19+B ve CD3+T lenfosit hücreleri için anlamli bir fark bulamadık. Kontrol ve hasta grubu karşılaştırdığımızda CD4+T lenfositleri hasta grubunda istatistiksel olarak anlamli derecede düşük bulurken, CD8+T lenfosit ve NK hücreleri ile CD3+HLA DR+ antijeni hasta grubunda

istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulduk. OSAS hasta grubunun şiddetine göre oluşturduğumuz gruplarda yapmış olduğumuz karşılaştırmada ise CD19+B lenfosit, CD3+T lenfosit, CD16+/CD56+ ve CD3+/HLA DR+ için anlamlı bir fark bulamadık. CD4+T lenfosit hücrelerini hafif-orta ve hafif-ağır OSAS hastaları ile karşılaştırdığımızda orta ve ağır OSAS hastalarında anlamlı olarak düşük bulurken CD8+T lenfosit hücrelerini ağır OSAS hastalarında anlamlı olarak yüksek bulduk. Orta ve ağır OSAS hastaları arasında anlamlı fark bulamadık.

Çalışma gruplarımızda allellerin lenfosit alt grupları ve CD3+HLA DR+ antijenine etkisini araştırdığımızda HLA-DRB1 allellerinin immün sistem hücreleri üzerine anlamlı bir etkisini belirleyemedik.



## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızda Şubat 2017-Kasım 2017 tarihleri arasında Göğüs Hastalıkları Polikliniğine başvuran bireylere uyku laboratuvarında yapmış olduğumuz polisomnografi sonuçlarına göre OSAS hastalığının teşhisini koyduk.

OSAS hastalarının BMI, yaş ve cinsiyetleri üzerine yapmış olduğumuz istatistiksel analiz sonucunda BMI artışının OSAS hastalığının görülme sıklığını arttırdığını ve obezitenin hastalarda önemli bir predispozan faktör olduğunu tespit ettik. Obezitenin yanı sıra yaş artışının ve erkek cinsiyet faktörünün de OSAS hastalığının görülmesinde etkili olduğunu ortaya koyduk.

OSAS hastalığının genetik temeli olup olmadığını araştırmak amacıyla OSAS hastalarında HLA sınıf II gen bölgesinde bulunan HLA-DRB1 allellerini araştırdık. Bu araştırma sonucunda HLA-DRB1\*03 allelinin hastalarda istatistiksel olarak daha fazla görüldüğünü ve bu allelin hastalığa yatkınlığı arttırdığını ortaya koyduk. Ayrıca ağır OSAS (AHI>30) hastalarında HLA-DRB1\*08 allelinin anlamlı olarak arttığını ve hastalığın şiddeti ile ilişkili olabileceğini belirledik.

OSAS hastalığını immün sistem hücrelerinin lenfosit alt grupları üzerinden araştırdığımızda CD4+T lenfositlerinin azalmış, CD3+HLADR+ antijeni, CD8+T lenfosit ve CD16+56+ (Natural Killer) hücrelerinin anlamlı olarak artmış olduğunu tespit ettik. Buda bize NK hücrelerinin hastalığın şiddeti ile ilişkili olabileceğini göstermiştir.

Bu sonuçlar bize OSAS hastalığının otoimmünite ile ilişkili multifaktöryel bir hastalık olduğunu genetik ve çevresel faktörlerle etkileşerek ortaya çıktığını ayrıca bu hastalığın sistemik inflamasyonda rol oynayan immün sistem hücrelerinin sayılarında değişikliğe neden olduğunu göstermiştir. OSAS hastalığında immün sistem elemanlarında meydana gelen bu değişikliklerin izlenmesi ve buna yönelik tedavilerin yapılmasının ortaya çıkan klinik patolojilerin azalmasına yardımcı olabileceğini düşünüyoruz.

Yapmış olduğumuz çalışma sonucunda elde ettiğimiz verilerle allel ve immün sistem arasındaki ilişkiye dair anlamlı bir bulguya rastlayamadık. Bu durumun hasta



sayısının ve buna bağlı olarak allel sayısının az olmasından kaynaklanmış olabileceği ihtimali bulunmaktadır.

İleride yapılacak olan çalışmalarda hasta sayısının arttırılması ile birlikte HLADRB\*03 ve HLADRB1\*08 allellerine spesifik kitler kullanılarak çalışmanın yapılması hastalığın genetik temelini daha net ortaya konularak sonraki nesillerde hastalığın prevalansının azaltılması açısından faydalı olabileceğini dűřünüyoruz. Ayrıca otoimmünitinin daha iyi değerlendirilmesi açısından immun yanıtı kısıtlayıcı ya da değiştirici etki gösteren Treg hűcresinin çalışılmasının literatűre katkı sağlayabileceğini kanaatindeyiz.



## 7. ÖZET

Obstrüktif uyku apne sendromu (OSAS) uykuda solunum bozuklukları arasında en sık görülen ve yaş, cinsiyet ve obezite gibi bazı predispozan faktörlerin eşlik ettiği çeşitli klinik patolojilere neden olan kompleks, poligenik ve multifaktöryel bir hastalıktır. HLA polimorfizmleri ve uyku bozuklukları arasındaki ilişki ortaya konulmuş fakat HLA alleleri ile ilişkisi tam olarak açıklık kazanmamıştır. Ayrıca OSAS hastalarında meydana gelen uyku yoksunluğu savunma mekanizmalarına zarar vererek immün sisteminin bileşenlerini ve tepkilerini etkileyen değişikliklere neden olabileceği belirtilmiştir. Çalışmamızın amacı, OSAS hastalığının HLA-DRB1 alleleri ile ilişkisini ve immün sistem hücreleri üzerine etkilerini araştırmaktır.

Çalışmamızda, Şubat 2017-Kasım 2017 tarihleri arasında Göğüs Hastalıkları Polikliniğine başvuran tüm bireylerin BMI, yaş ve cinsiyetleri PSG öncesi kaydedildi. PSG sonuçlarını değerlendirerek OSAS hasta ve kontrol grubu oluşturuldu ve ODİ, SaO<sub>2</sub> değerlerini kaydedildi. Ayrıca, OSAS hastaları AHI değerlerine göre hafif, orta ve ağır OSAS olarak gruplandırıldı. Kontrol ve hasta gruplarında PCR-SSP yöntemi ile HLA-DRB1 allellerine ve flow sitometri yöntemiyle de lenfosit alt gruplarına bakıldı.

BMI, erkek cinsiyet ve yaş faktörünün OSAS hastalığında artmış olduğunu ve bu hastalarda SaO<sub>2</sub> değerinin de anlamlı derecede düştüğünü belirledik. OSAS hastalığında HLA-DRB1\*03 allelinin, ağır OSAS'lılarda ise HLA-DRB1\*08 allelinin artmış olduğunu belirledik. OSAS hastalığında, immün sisteme ait lenfosit alt gruplarında ise CD19+B lenfosit ve CD3+T lenfositlerin değişmediğini, CD4+T lenfositlerin azaldığını ve HLA DR antijeni, CD8+T lenfosit ve CD16+56+(NK) hücrelerinin artmış olduğunu tespit ettik.

Sonuç olarak, HLA-DRB1\*03 alleli varlığının OSAS hastalığına yatkınlığı arttırabileceği ve HLA-DRB1\*08 allelinin de hastalığın şiddeti ile ilişkili olabileceği kanaatine vardık. Ayrıca HLA DR antijeninin, CD8+T sitotoksik lenfositlerin ve NK hücrelerinin artışı OSAS hastalığının otoimmünite ile de ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Uyku apne genetiği, allel frekansı, lenfosit alt grupları

## 8. ABSTRACT

Obstructive sleep apnea syndrome (OSAS) is a complex, polygenic and multifactorial disease that causes various clinical pathologies associated with some predisposing factors, such as age, sex, and obesity, which are the most common respiratory disorders in sleep. The relationship between HLA polymorphisms and sleep disturbances has been established, but the relationship with HLA alleles has not been fully clarified. It has also been suggested that sleep deprivation in OSAS patients may cause changes that affect the components and responses of the immune system by damaging the defense mechanisms. The aim of our study is to investigate the association of OSAS disease with HLA-DRB1 alleles and the effects on the immune system cells.

BMI, age, and gender of all individuals who applied to the Chest Diseases Policlinic between February 2017 and November 2017 were recorded before the PSG in our study. Evaluating PSG results, OSAS patient and control group were formed and ODI, SaO<sub>2</sub> values were recorded. In addition, OSAS patients were grouped as mild, moderate and severe OSAS according to their AHI values. In control and patient groups, lymphocyte subgroups were examined by the PCR-SSP method and HLA-DRB1 alleles and flow cytometry.

We have found that BMI, male gender and age factor are increased in OSAS disease and that SaO<sub>2</sub> value falls significantly in these patients. We found that HLA-DRB1\*03 allele in OSAS disease and HLA-DRB1\*08 alleles in heavy OSAS were increased. We found that CD19 + B lymphocytes and CD3+T lymphocytes did not change, CD4 + T lymphocytes decreased and HLA DR antigen, CD8 + T lymphocytes and CD16 + 56 + (NK) cells increased in OSAS disease and immunocyte subgroups.

As a result, we conclude that HLA-DRB1\*03 alleles may increase susceptibility to OSAS disease and HLA-DRB1\*08 alleles may be associated with severity of the disease. Furthermore, the increase in HLA DR antigen, CD8+T cytotoxic lymphocytes and NK cells suggests that OSAS disease may also be related to autoimmunity.

**Keywords:** Sleep apnea genetics, allele frequency, lymphocyte subgroups

## 9. KAYNAKLAR

1. Health NIO. National Institute of Neurological Disorders and Stroke. Brain basics: Understanding sleep. 2003.
2. He J, Kryger MH, Zorick FJ, Conway W, Roth T. Mortality and apnea index in obstructive sleep apnea: experience in 385 male patients. *Chest*. 1988;94(1):9-14.
3. Partinen M, Jamieson A, Guilleminault C. Long-term outcome for obstructive sleep apnea syndrome patients: mortality. *Chest*. 1988;94(6):1200-4.
4. Punjabi NM. The epidemiology of adult obstructive sleep apnea. *Proceedings of the American Thoracic Society*. 2008;5(2):136-43.
5. Medicine AAoS. International classification of sleep disorders—third edition (ICSD-3). AASM Resource Library. 2014.
6. Malhotra A, White DP. Obstructive sleep apnoea. *Lancet*. 2002;360(9328):237-45.
7. Sasanabe R, Banno K, Otake K, Hasegawa R, Usui K, Morita M, et al. Metabolic syndrome in Japanese patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Hypertension research*. 2006;29(5):315-22.
8. Riha RL. Genetic aspects of the obstructive sleep apnoea/hypopnoea syndrome—is there a common link with obesity? *Respiration*. 2009;78(1):5-17.
9. Casale M, Pappacena M, Rinaldi V, Bressi F, Baptista P, Salvinelli F. Obstructive sleep apnea syndrome: from phenotype to genetic basis. *Current genomics*. 2009;10(2):119-26.
10. Kent BD, Ryan S, McNicholas WT. The genetics of obstructive sleep apnoea. *Current opinion in pulmonary medicine*. 2010;16(6):536-42.
11. Palmer LJ, Redline S. Genomic approaches to understanding obstructive sleep apnea. *Respiratory physiology & neurobiology*. 2003;135(2):187-205.
12. Gottlieb DJ, T O'Connor G, Wilk JB. Genome-wide association of sleep and circadian phenotypes. *BMC medical genetics*. 2007;8(1):S9.
13. Honda Y, Asaka A, Tanaka Y, Jusi T, editors. Discrimination of narcoleptic patients by using genetic markers. 4th International Congress on Sleep Research Toronto, Canada; 1984.
14. Trowsdale J, Knight JC. Major histocompatibility complex genomics and human disease. *Annual review of genomics and human genetics*. 2013;14:301-23.
15. Klein J, Sato A. The HLA system. *New England Journal of Medicine*. 2000;343(10):702-9.
16. Gale SD, Hopkins RO. Effects of hypoxia on the brain: neuroimaging and neuropsychological findings following carbon monoxide poisoning and obstructive sleep apnea. *Journal of the International Neuropsychological Society*. 2004;10(1):60-71.

17. Dinges DF, Douglas SD, Zaugg L, Campbell DE, McMann JM, Whitehouse WG, et al. Leukocytosis and natural killer cell function parallel neurobehavioral fatigue induced by 64 hours of sleep deprivation. *Journal of Clinical Investigation*. 1994;93(5):1930.
18. Domagała-Kulawik J, Osińska I, Piechuta A, Bielicki P, Skirecki T. T, B, and NKT cells in systemic inflammation in obstructive sleep apnoea. *Mediators of inflammation*. 2015;2015.
19. Sériès F, Chakir J, Boivin D. Influence of weight and sleep apnea status on immunologic and structural features of the uvula. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2004;170(10):1114-9.
20. Bozkurt NC, Karbek B, Cakal E, Firat H, Ozbek M, Delibasi T. The association between severity of obstructive sleep apnea and prevalence of Hashimoto's thyroiditis. *Endocrine journal*. 2012;59(11):981-8.
21. Covas M, Esquerda A, Garcia-Rico A, Mahy N. Peripheral blood T-lymphocyte subsets in autoimmune thyroid disease. *Journal of investigational allergology & clinical immunology*. 1992;2(3):131-5.
22. Phillips B, Gelula R. Sleep-wake cycle: Its physiology and impact on health. Retrieved October. 2006;22:2007.
23. McCormick DA. Neurotransmitter actions in the thalamus and cerebral cortex and their role in neuromodulation of thalamocortical activity. *Prog Neurobiol*. 1992;39(4):337-88.
24. Pıçak R, İsmailoğulları S, Mazıcıoğlu MM, Üstünbaş HB, Aksu M. Birinci basamakta uyku bozukluklarına yaklaşım ve öneriler. *Turkish Journal Of Family Medicine And Primary Care*. 2010;4(3).
25. Rechtschaffen A, Kales A. A manual of standardized terminology, techniques, and scoring systems for sleep stages of human subjects. 1968.
26. Öztürk L. Uyku ve Uyanıklığın Güncel Fizyolojisi. *Türkiye Klinikleri Journal of Pulmonary Medicine Special Topics*. 2008;1(1):5-10.
27. Brown RE, Basheer R, McKenna JT, Strecker RE, McCarley RW. Control of sleep and wakefulness. *Physiological reviews*. 2012;92(3):1087-187.
28. Tsara V, Amfilochiou A, Papagrigoarakis M, Georgopoulos D, Liolios E. Guidelines for diagnosis and treatment of sleep-related breathing disorders in adults and children. Definition and classification of sleep related breathing disorders in adults: different types and indications for sleep studies (Part 1). *Hippokratia*. 2009;13(3):187-91.
29. Ruehland WR, Rochford PD, O'donoghue FJ, Pierce RJ, Singh P, Thornton AT. The new AASM criteria for scoring hypopneas: impact on the apnea hypopnea index. *Sleep*. 2009;32(2):150-7.
30. Köktürk O. Uykuda Solunum Bozuklukları Sınıflaması, Tanımlar ve Obstrüktif Uyku Apne Sendromu (Epidemiyoloji ve Klinik Bulgular). *Türkiye Klinikleri Journal of Pulmonary Medicine Special Topics*. 2008;1(1):40-5.

31. Parish JM. Genetic and immunologic aspects of sleep and sleep disorders. *CHEST Journal*. 2013;143(5):1489-99.
32. Caples SM, Gami AS, Somers VK. Obstructive sleep apnea. *Annals of internal medicine*. 2005;142(3):187-97.
33. Force AOSAT, Medicine AAoS. Clinical guideline for the evaluation, management and long-term care of obstructive sleep apnea in adults. *Journal of clinical sleep medicine: JCSM: official publication of the American Academy of Sleep Medicine*. 2009;5(3):263.
34. Sharma H, Sharma S. Overview and implications of obstructive sleep apnoea. *Indian Journal of Chest Diseases and Allied Sciences*. 2008;50(1):137.
35. Patil SP, Schneider H, Schwartz AR, Smith PL. Adult obstructive sleep apnea: pathophysiology and diagnosis. *Chest Journal*. 2007;132(1):325-37.
36. Köktürk O. Obstrüktif uyku apne sendromu. Klinik özellikler. *Tuberk Toraks*. 1999;47:117-26.
37. McNicholas WT. Diagnosis of obstructive sleep apnea in adults. *Proceedings of the American thoracic society*. 2008;5(2):154-60.
38. Redline S, Strohl KP. Recognition and consequences of obstructive sleep apnea hypopnea syndrome. *Clinics in chest medicine*. 1998;19(1):1-19.
39. Izcı B, Ardic S, Firat H, Sahin A, Altınors M, Karacan I. Reliability and validity studies of the Turkish version of the Epworth Sleepiness Scale. *Sleep and Breathing*. 2008;12(2):161-8.
40. Wiegand L, Zwillich CW. Obstructive sleep apnea. *Disease-a-Month*. 1994;40(4):202-52.
41. Findley LJ, Weiss JW, Jabour ER. Drivers with untreated sleep apnea: a cause of death and serious injury. *Archives of internal medicine*. 1991;151(7):1451-2.
42. Dement W. History of sleep physiology and Medicine In: Kryger MH, Roth T, Dement WC principles and practice of sleep Medicine. Philadelphia: WB Saunders Company. 2005:1-.
43. Karadağ M. Dünyada ve Türkiye'de Uyku Çalışmaları, Tarihçe. *Türkiye Klinikleri Journal of Pulmonary Medicine Special Topics*. 2008;1(1):1-4.
44. Gastaut H, Tassinari C, Duron B. Polygraphic study of the episodic diurnal and nocturnal (hypnic and respiratory) manifestations of the Pickwick syndrome. *Brain research*. 1966;1(2):167-86.
45. Oğuz K. Uykuda solunum bozuklukları. Tarihçe, tanımlar, hastalık spektrumu ve boyutu. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi*. 1998;46(2):187-92.
46. Loth A, Michel J, Giorgi R, Santini L, Rey M, Elbaum JM, et al. Prevalence of obstructive sleep apnoea syndrome following oropharyngeal cancer treatment: A prospective cohort study. *Clinical Otolaryngology*. 2017.

47. Köktürk O, Tatlıcıoğlu T, Kemaloğlu Y, Fırat H, Çetin N. Habitüel horlaması olan olgularda obstrüktif sleep apne sendromu prevalansı. *Tüberküloz ve Toraks dergisi*. 1997;45(1):7-11.
48. Malhotra A, Huang Y, Fogel RB, Pillar G, Edwards JK, Kikinis R, et al. The male predisposition to pharyngeal collapse: importance of airway length. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2002;166(10):1388-95.
49. McGoldrick KE. Risk Factors for Obstructive Sleep Apnea in Adults. *Survey of Anesthesiology*. 2004;48(5):271.
50. Berry RB, Foster R. Obstructive sleep apnea hypopnea syndromes: definitions, epidemiology, diagnosis, and consequences. *Clinical Sleep Disorders*, Philadelphia: Williams & Wilkins. 2005:254-89.
51. Young T, Shahar E, Nieto FJ, Redline S, Newman AB, Gottlieb DJ, et al. Predictors of sleep-disordered breathing in community-dwelling adults: the Sleep Heart Health Study. *Archives of internal medicine*. 2002;162(8):893-900.
52. Schwab RJ. Sex differences and sleep apnoea. *BMJ Publishing Group Ltd*; 1999.
53. Gislason T, Almqvist M, Eriksson G, Taube A, Boman G. Prevalence of sleep apnea syndrome among Swedish men—an epidemiological study. *Journal of Clinical Epidemiology*. 1988;41(6):571-6.
54. Kim J, In K, Kim J, You S, Kang K, Shim J, et al. Prevalence of sleep-disordered breathing in middle-aged Korean men and women. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2004;170(10):1108-13.
55. Newman AB, Foster G, Givelber R, Nieto FJ, Redline S, Young T. Progression and regression of sleep-disordered breathing with changes in weight: the Sleep Heart Health Study. *Archives of internal medicine*. 2005;165(20):2408-13.
56. Smith PL, Gold AR, Meyers DA, Haponik EF, Bleecker ER. Weight loss in mildly to moderately obese patients with obstructive sleep apnea. *Ann Intern Med*. 1985;103(6 Pt 1):850-5.
57. Young T, Peppard PE, Gottlieb DJ. Epidemiology of obstructive sleep apnea: a population health perspective. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2002;165(9):1217-39.
58. Mitler MM, Dawson A, Henriksen SJ, Sobers M, Bloom FE. Bedtime ethanol increases resistance of upper airways and produces sleep apneas in asymptomatic snorers. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. 1988;12(6):801-5.
59. Sharma S, Reddy T, Mohan A, Handa K, Mukhopadhyay S, Pande J. Sleep disordered breathing in chronic obstructive pulmonary disease. *INDIAN JOURNAL OF CHEST DISEASES AND ALLIED SCIENCES*. 2002;44(2):99-106.
60. Kryger M, Roth G, Eloni D, Dement W. Principles and Practice of Sleep Medicine.(2005). Philadelphia, PA, WB Saunders.

61. Li KK, Kushida C, Powell NB, Riley RW, Guilleminault C. Obstructive sleep apnea syndrome: a comparison between Far-East Asian and white men. *The Laryngoscope*. 2000;110(10):1689-93.
62. Strohl KP, Saunders NA, Feldman NT, Hallett M. Obstructive sleep apnea in family members. *New England Journal of Medicine*. 1978;299(18):969-73.
63. Redline S, Tishler PV. The genetics of sleep apnea. *Sleep medicine reviews*. 2000;4(6):583-602.
64. Akkaya A ÖÖ. Obstrüktif uyku apne sendromu fizyopatoloji ve klinik bulguları. Özlü T MM, Karadağ M, Kaya A, editor: İstanbul: Medikal yayıncılık; 2010. 2131-9 p.
65. Cartwright RD, Lloyd S, Lillie J, Kravitz H. Sleep position training as treatment for sleep apnea syndrome: a preliminary study. *Sleep*. 1985;8(2):87-94.
66. Young T, Finn L, Palta M. Chronic nasal congestion at night is a risk factor for snoring in a population-based cohort study. *Archives of internal medicine*. 2001;161(12):1514-9.
67. Kato M, Roberts-Thomson P, Phillips BG, Haynes WG, Winnicki M, Accurso V, et al. Impairment of endothelium-dependent vasodilation of resistance vessels in patients with obstructive sleep apnea. *Circulation*. 2000;102(21):2607-10.
68. Shamsuzzaman AS, Winnicki M, Lanfranchi P, Wolk R, Kara T, Accurso V, et al. Elevated C-reactive protein in patients with obstructive sleep apnea. *Circulation*. 2002;105(21):2462-4.
69. Kähler CM, Wechselberger J, Molnar C, Prior C, Schulz R, Seeger W, et al. From the Authors. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2003;167(1):92-3.
70. Riha R, Brander P, Vennelle M, McArdle N, Kerr S, Anderson N, et al. Tumour necrosis factor- $\alpha$  (-308) gene polymorphism in obstructive sleep apnoea-hypopnoea syndrome. *European Respiratory Journal*. 2005;26(4):673-8.
71. Peppard PE, Young T, Palta M, Skatrud J. Prospective study of the association between sleep-disordered breathing and hypertension. *New England Journal of Medicine*. 2000;342(19):1378-84.
72. Somers VK, White DP, Amin R, Abraham WT, Costa F, Culebras A, et al. Sleep apnea and cardiovascular disease. *Circulation*. 2008;118(10):1080-111.
73. Chareonthaitawee P, Somers V. Continuous Positive Airway Pressure and Increased Ejection Fraction in Heart Failure and Obstructive Sleep Apnea. *Journal of the American College of Cardiology*; 2007.
74. Poza J, Martínez A, Emparanza J, López dMA, Martí MJ. Sleep apnea syndrome and cerebral infarction. *Neurologia (Barcelona, Spain)*. 2000;15(1):3-7.
75. Alonso-Fernández A, García-Río F, Racionero MA, Pino JM, Ortuno F, Martínez I, et al. Cardiac rhythm disturbances and ST-segment depression



- episodes in patients with obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome and its mechanisms. *CHEST Journal*. 2005;127(1):15-22.
76. Ip MS, Lam B, Ng MM, Lam WK, Tsang KW, Lam KS. Obstructive sleep apnea is independently associated with insulin resistance. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2002;165(5):670-6.
  77. Baldwin CM, Griffith KA, Nieto FJ, O'connor GT, Walsleben JA, Redline S. The association of sleep-disordered breathing and sleep symptoms with quality of life in the Sleep Heart Health Study. *Sleep*. 2001;24(1):96-105.
  78. Johansson P, Alehagen U, Svanborg E, Dahlström U, Broström A. Clinical characteristics and mortality risk in relation to obstructive and central sleep apnoea in community-dwelling elderly individuals: a 7-year follow-up. *Age and ageing*. 2012;41(4):468-74.
  79. Howard ME, Desai AV, Grunstein RR, Hukins C, Armstrong JG, Joffe D, et al. Sleepiness, sleep-disordered breathing, and accident risk factors in commercial vehicle drivers. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2004;170(9):1014-21.
  80. Dixon JB, Schachter LM, O'Brien PE, Jones K, Grima M, Lambert G, et al. Surgical vs conventional therapy for weight loss treatment of obstructive sleep apnea: a randomized controlled trial. *Jama*. 2012;308(11):1142-9.
  81. Randerath WJ, Verbraecken J, Andreas S, Bettenga G, Boudewyns A, Hamans E, et al. Non-CPAP therapies in obstructive sleep apnoea. *Eur Respiratory Soc*; 2011.
  82. Silva L, Lopes J, Ramalheira J, Cunha D, Carvalho C, Bettencourt A, et al. Obstructive sleep apnoea syndrome and HLA in the North of Portugal. *Revista de neurologia*. 2015;61(7):301-7.
  83. Mackay I, Rosen FS, Klein J, Sato A. The HLA system. *New England Journal of Medicine*. 2000;343(10):702-9.
  84. Everson CA. Clinical assessment of blood leukocytes, serum cytokines, and serum immunoglobulins as responses to sleep deprivation in laboratory rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2005;289(4):R1054-R63.
  85. Savard J, Laroche L, Simard S, Ivers H, Morin CM. Chronic insomnia and immune functioning. *Psychosomatic medicine*. 2003;65(2):211-21.
  86. Mehra NK, Taneja V. HLA, immune response and disease. *Indian J Pediatr*. 1989;56(2):171-9.
  87. Fernando MM, Stevens CR, Walsh EC, De Jager PL, Goyette P, Plenge RM, et al. Defining the role of the MHC in autoimmunity: a review and pooled analysis. *PLoS genetics*. 2008;4(4):e1000024.
  88. Beck S, Geraghty D, Inoko H, Rowen L. Complete sequence and gene map of a human major histocompatibility complex. *Nature*. 1999;401(6756):921-3.
  89. Simmonds M, Gough S. The HLA region and autoimmune disease: associations and mechanisms of action. *Current genomics*. 2007;8(7):453-65.

90. Mehra NK. The HLA complex in biology and medicine: a resource book: Boydell & Brewer Ltd; 2010.
91. Thorsby E. On the future of HLA. *HLA*. 2011;78(4):229-40.
92. Tait BD. The ever-expanding list of HLA alleles: changing HLA nomenclature and its relevance to clinical transplantation. *Transplantation Reviews*. 2011;25(1):1-8.
93. Ustaçelebi Ş. Temel ve klinik mikrobiyoloji: Güneş kitabevi; 1999.
94. Kibar F, Yaman A, Zorluer E, Etiz P, Kurtaran B, Candevir A. In vitro activity of tigecycline, doxycycline, streptomycin, rifampicin, and ciprofloxacin against 70 strains of *Brucella melitensis*. *Clinical Microbiology & Infection*. 2009;15(4):S386.
95. Goldsby R, Kindt T, Osborne B, Kuby J. Major histocompatibility complex. Immunology New York: WH Freeman and Company. 2003:161-84.
96. Hewitt EW. The MHC class I antigen presentation pathway: strategies for viral immune evasion. *Immunology*. 2003;110(2):163-9.
97. Antoniou AN, Powis SJ, Elliott T. Assembly and export of MHC class I peptide ligands. *Current opinion in immunology*. 2003;15(1):75-81.
98. Leone P, Shin E-C, Perosa F, Vacca A, Dammacco F, Racanelli V. MHC class I antigen processing and presenting machinery: organization, function, and defects in tumor cells. *Journal of the National Cancer Institute*. 2013;105(16):1172-87.
99. Guiliano DB, Fussell H, Lenart I, Tsao E, Nesbeth D, Fletcher AJ, et al. Endoplasmic reticulum degradation-enhancing alpha-mannosidase-like protein 1 targets misfolded HLA-B27 dimers for endoplasmic reticulum-associated degradation. *Arthritis & rheumatology (Hoboken, NJ)*. 2014;66(11):2976-88.
100. Blum JS, Wearsch PA, Cresswell P. Pathways of antigen processing. *Annual review of immunology*. 2013;31:443-73.
101. Akçam FZ. HLA sistemi. *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*. 2005;25(6):829-34.
102. Busch R, Doebele RC, Patil NS, Pashine A, Mellins ED. Accessory molecules for MHC class II peptide loading. *Current opinion in immunology*. 2000;12(1):99-106.
103. Robinson JH, Delvig AA. Diversity in MHC class II antigen presentation. *Immunology*. 2002;105(3):252-62.
104. Caillat-Zucman S. Molecular mechanisms of HLA association with autoimmune diseases. *HLA*. 2009;73(1):1-8.
105. Stites D, Terr A. Basic human immunol. New York, NY: Prentice Hall. 1991.
106. Carroll MC, Palsdottir A, Belt K, Porter R. Deletion of complement C4 and steroid 21-hydroxylase genes in the HLA class III region. *The EMBO journal*. 1985;4(10):2547.

107. White PC. Molecular genetics of the class III region of the HLA complex. *Immunobiology of HLA*: Springer; 1989. p. 62-9.
108. Marsh SG, Parham P, Barber LD. *The HLA factsbook*: Academic Press; 1999.
109. Ciftci TU, Ciftci B, Guven SF, Kokturk O, Turktas H. Effect of nasal continuous positive airway pressure in uncontrolled nocturnal asthmatic patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Respiratory medicine*. 2005;99(5):529-34.
110. Medicine. *The AASM manual for the scoring of sleep and associated events: Rules. Terminology and Technical Specifications* Westchester: AASM. 2007.
111. Berry RB, Budhiraja R, Gottlieb DJ, Gozal D, Iber C, Kapur VK, et al. Rules for scoring respiratory events in sleep: update of the 2007 AASM manual for the scoring of sleep and associated events: deliberations of the sleep apnea definitions task force of the American Academy of Sleep Medicine. *Journal of clinical sleep medicine: JCSM: official publication of the American Academy of Sleep Medicine*. 2012;8(5):597.
112. Excoffier L, Lischer HE. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular ecology resources*. 2010;10(3):564-7.
113. Langton RS, Neyra J, Downs JW, Niebuhr DW. The Relationship Between Enlistment Body Mass Index and the Development of Obstructive Sleep Apnea in the U.S. Military. *Military medicine*. 2016;181(8):913-9.
114. Kositanurit W, Muntham D, Udomsawaengsup S, Chirakalwasan N. Prevalence and associated factors of obstructive sleep apnea in morbidly obese patients undergoing bariatric surgery. *Sleep & breathing = Schlaf & Atmung*. 2017.
115. Patel VA, Romain PS, Sanchez J, Fisher DA, Schulteis RD. Obstructive Sleep Apnea Increases the Risk of Cardiopulmonary Adverse Events Associated with Ambulatory Colonoscopy Independent of Body Mass Index. *Digestive diseases and sciences*. 2017;62(10):2834-9.
116. Pi-Sunyer FX, Becker DM, Bouchard C, Carleton R, Colditz G, Dietz W, et al. Clinical guidelines on the identification, evaluation, and treatment of overweight and obesity in adults. *American Journal of Clinical Nutrition*. 1998;68(4):899-917.
117. Organization WH. *Global database on Body Mass Index: BMI Classification*. 2006. World Health Organization Retrieved. 2016;16.
118. Schwartz AR, Patil SP, Laffan AM, Polotsky V, Schneider H, Smith PL. Obesity and obstructive sleep apnea: pathogenic mechanisms and therapeutic approaches. *Proceedings of the American Thoracic Society*. 2008;5(2):185-92.
119. Romero-Corral A, Caples SM, Lopez-Jimenez F, Somers VK. Interactions between obesity and obstructive sleep apnea: implications for treatment. *CHEST Journal*. 2010;137(3):711-9.
120. Gami AS, Caples SM, Somers VK. Obesity and obstructive sleep apnea. *Endocrinology and Metabolism Clinics*. 2003;32(4):869-94.

121. Yurtlu S, Sariman N, Levent E, Soylu AC, Alparslan S, Saygi A. Short-term positive airway pressure therapy response in obstructive sleep apnea patients: impact of treatment on the quality of life. *Tuberk toraks*. 2012;60(4):327-35.
122. Ayık S, Akhan G, Peker Ş. Obstrüktif Uyku Apne Sendromlu (OSAS) Olgularda Obezite Sıklığı ve Ek Hastalıklar. *Türk Toraks Derneği*. 2011;12:105-10.
123. Ertekin YH, Şahin MK, Yariş F. Obezite ve Obstrüktif Uyku Apne Sendromu. *Türkiye Klinikleri Journal of Family Medicine Special Topics*. 2015;6(3):60-4.
124. Nieto FJ, Young TB, Lind BK, Shahar E, Samet JM, Redline S, et al. Association of sleep-disordered breathing, sleep apnea, and hypertension in a large community-based study. *Jama*. 2000;283(14):1829-36.
125. Lin CM, Davidson TM, Ancoli-Israel S. Gender differences in obstructive sleep apnea and treatment implications. *Sleep medicine reviews*. 2008;12(6):481-96.
126. Aydoğan Eroğlu S, Kuyucu T. Obstrüktif Uyku Apne Sendromu ile Yaş, Cinsiyet ve Sigara İçiciliği Arasındaki İlişki. 2013.
127. Gabbay IE, Lavie P. Age- and gender-related characteristics of obstructive sleep apnea. *Sleep & breathing = Schlaf & Atmung*. 2012;16(2):453-60.
128. Fidan F, Ünlü M, Sezer M, Geçici Ö, Kara Z. Uyku apne sendromlu hastalarda CPAP tedavisine uyum ve tedavinin anksiyete ve depresyon üzerine etkisi. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi*. 2007;55(3):271-7.
129. Teschler H, Farhat A, Exner V, Konietzko N, Berthon-Jones M. AutoSet nasal CPAP titration: constancy of pressure, compliance and effectiveness at 8 month follow-up. *European Respiratory Journal*. 1997;10(9):2073-8.
130. Tsai WH, Flemons WW, Whitelaw WA, Remmers JE. A comparison of apnea-hypopnea indices derived from different definitions of hypopnea. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 1999;159(1):43-8.
131. Noda A, Okada T, Yasuma F, Sobue T, Nakashima N, Yokota M. Prognosis of the middle-aged and aged patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Psychiatry and clinical neurosciences*. 1998;52(1):79-85.
132. Hawrylkiewicz I, Sliwinski P, Gorecka D, Plywaczewski R, Zielinski J. Pulmonary haemodynamics in patients with OSAS or an overlap syndrome. *Monaldi archives for chest disease*. 2004;61(3).
133. Saruhan-Direskeneli G, Uyar F, Bakar Ş, Eraksoy M. Molecular analysis of HLA-DRB1,-DQA1 and-DQB1 polymorphism in Turkey. *HLA*. 2000;55(2):171-4.
134. Erikoğlu M, Büyükdoğan M, Cora T. The Relationship Between HLA Antigens and Blood Groups. *European Journal of General Medicine*. 2011;8(1).
135. Kayhan B, Kurtoglu E, Taskapan H, Piskin T, Sahin I, Otlu G, et al., editors. HLA-A,-B,-DRB1 allele and haplotype frequencies and comparison with

blood group antigens in dialysis patients in the east Anatolia region of Turkey. *Transplantation proceedings*; 2013: Elsevier.

136. Soyoz M, Akman B, Totur I, Topcu S, Kocyigit AO, Gurbuz BC, et al. Human Leukocyte Antigen Class I-II Allele Frequencies and Association Between Human Leukocyte Antigen Alleles and ABO Blood Group Antigens. *Turkish Journal of Immunology*. 2016;4(1):14-8.
137. Honda Y, Asaka A, Tanaka Y, Juji T. Discrimination of narcolepsy by using genetic markers and HLA. *Sleep Res*. 1983;12:254.
138. Mignot E, Lin X, Arrigoni J, Macaubas C, Olive F, Hallmayer J, et al. DQB1\* 0602 and DQA1\* 0102 (DQ1) are better markers than DR2 for narcolepsy in Caucasian and black Americans. *Sleep*. 1994;17(suppl\_8):S60-S7.
139. Martins-da-Silva A, Lopes J, Ramalheira J, Carvalho C, Cunha D, Costa PP, et al. Utilidad de la caracterización genética de la narcolepsia y la hipersomnia en la definición del fenotipo: estudio en pacientes portugueses. *Revista de neurologia*. 2014;58(2):49-54.
140. Brunetti L, Francavilla R, Leonardo Miniello V, Leone M, Rana M, Colazzo D, et al. Influence of HLA antigens and OSAS in childhood: a preliminary report. *Journal of sleep research*. 2005;14(2):157-62.
141. Lee SH, Kim CH, Ahn JH, Kang JH, Kim KH, Song JS, et al. Analysis of HLA in Patients with Obstructive Sleep Apnea Syndrome. *Tuberculosis and Respiratory Diseases*. 2005;59(3):298-305.
142. Alfazer S, Cuhadaroğlu C, Tülek B, Aydemir N, Erelel M, Erkan F. Uyku apne hipopne sendromu genetik ilişkisi: HLA doku grubu analizi. *Solunum*. 2003;5(2):54-8.
143. Dyugovskaya L, Lavie P, Hirsh M, Lavie L. Activated CD8+ T-lymphocytes in obstructive sleep apnoea. *European Respiratory Journal*. 2005;25(5):820-8.
144. Bergeron C, Kimoff J, Hamid Q. Obstructive sleep apnea syndrome and inflammation. *Journal of allergy and clinical immunology*. 2005;116(6):1393-6.

## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı:</b>	Muhammet Yusuf	<b>Soyadı:</b>	TEPEBAŞI
<b>Doğum Yeri:</b>	KAHRAMANMARAŞ	<b>Doğum Tarihi:</b>	26.04.1974
<b>Uyruğu:</b>	TC	<b>Telefon:</b>	05466493785
<b>E- posta:</b>	gultepe74@windowlive.com		

### Eğitim Düzeyi

	<b>Mezun Olduğu Kurum</b>	<b>Mezuniyet Yılı</b>
<b>Yüksek Lisans</b>	SDÜ Tıbbi Biyoloji AD	2014

### İş Deneyimi

<b>Görev</b>	<b>Kurum</b>	<b>Süre (Yıl-Yıl)</b>
Biyolog	SDÜ Tıp Fakültesi	2001-

<b>Yabancı Dil</b>	<b>YÖKDİL</b>	<b>(Diğer) Puanı</b>
İngilizce	71,25	Orta

## ETİK KURUL



T.C.

SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ

Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı• 72867572-050- 2-2-442-

06 -02- 2017

Konu: Etik Kurul Kararı

Sayın Doç. Dr. Nilüfer ŞAHİN CALAPOĞLU

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

Sorumlu araştırmacı olduğunuz "Obstrüktif Uyku Apne Sendromlu Hastalarda HLA-DR Allel ve Antijeni ile İmmün Sistem Elemanlarının Araştırılması" isimli çalışmanızın kurulumuz tarafından uygun görüldüğüne ilişkin 18/01/2017 tarih ve 4 sayılı Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Kararı yazımız ekinde gönderilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Halil Aşçı'.

Yrd. Doç. Dr. Halil AŞÇI  
Başkan Yardımcısı