

**TÜBERKÜLOZ HASTALARINDA SOCS-1 GEN  
POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**LEYLA ERSOY**

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BIYOLOJİ  
ANABİLİM DALI**

**MERSİN  
TEMMUZ- 2019**

**TÜBERKÜLOZ HASTALARINDA SOCS-1 GEN  
POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**LEYLA ERSOY**

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BIYOLOJİ  
ANABİLİM DALI**




**Danışman  
Doç. Dr. A. Ata ÖZÇİMEN**

**İkinci Danışman  
Prof. Dr. Gönül ASLAN**

**MERSİN  
TEMMUZ- 2019**

## ONAY

Leyla ERSOY tarafından Doç.Dr. A. Ata ÖZÇİMEN danışmanlığında ve Prof. Dr. Gönül ASLAN ikinci danışmanlığında hazırlanan "Tüberküloz Hastalarında SOCS-1 Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması" başlıklı çalışma aşağıda imzaları bulunan jüri üyeleri tarafından 19 Temmuz 2019 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavı sonucunda oy birliği/çokluğu ile Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Görevi	Ünvanı, Adı ve Soyadı	İmza
Başkan	Prof. Dr. Sibel OĞUZKAN BALCI	
Üye	Doç. Dr. A. Ata ÖZÇİMEN	
Üye	Dr. Öğr. Üyesi Mahmut ÜLGER	

Yukarıdaki Jüri kararı Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 08/08/2019 tarih ve 2019.31/1165 sayılı kararıyla onaylanmıştır.



*Bu tezde kullanılan özgün bilgiler, şekil, tablo ve fotoğraflardan kaynak göstermeden alıntı yapmak 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu hükümlerine tabidir.*

## ETİK BEYAN

Mersin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğinde belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlâk kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak kullandığımı,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Mersin Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı,
- Tezin tüm telif haklarını Mersin Üniversitesi'ne devrettiğimi beyan ederim.

## ETHICAL DECLARATION

This thesis is prepared in accordance with the rules specified in Mersin University Graduate Education Regulation and I declare to comply with the following conditions:

- I have obtained all the information and the documents of the thesis in accordance with the academic rules.
- I presented all the visual, auditory and written informations and results in accordance with scientific ethics.
- I refer in accordance with the norms of scientific works about the case of exploitation of others' works.
- I used all of the referred works as the references.
- I did not do any tampering in the used data.
- I did not present any part of this thesis as an another thesis at Mersin University or another university.
- I transfer all copyrights of this thesis to the Mersin University.

19/07/2019

İmza / Signature

Öğrenci Adı ve Soyadı / Student Name and Surname

Leyla ERSOY

## ÖZET

### TÜBERKÜLOZ HASTALARINDA SOCS-1 GEN POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Tüberküloz (TB), *Mycobacterium tuberculosis* kompleks (MTBC) olarak bilinen bir grup mikobakterinin yol açtığı bir enfeksiyon hastalığıdır. Konağın biyolojik yapısı, çevresel koşullar, sosyoekonomik faktörler hastalığın gelişmesinde ve ilerlemesinde büyük rol oynamaktadır. Dünya nüfusunun %23'ünün bakteri ile enfekte olması ve enfekte kişilerin yaklaşık %5-10'unda aktif hastalık gelişmesi, bireyin hastalığa genetik olarak yatkınlığının bulunabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmada Sitokin Sinyal Baskılayıcısı (SOCS) ailesinden olan SOCS-1'de Tek Nükleotit Polimorfizimlerinin (Single Nucleotide Polymorphisms-SNP) varlığının Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) ve Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism-RFLP) yöntemleri ile araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada SOCS-1 geni promotör bölgesinde bulunan -1478 CA/del (rs33989964) ve ekson2'de bulunan 1335 G/C (rs11549428) SNP varlığı incelenmiştir.

Klinik materyalinde MTBC izole edilen 90 hasta çalışmaya dahil edildi. Bunların 69 (%76,6)'u erkek, 21 (%23,3)'i kadındı (yaş ortalamaları=39,38±17,54). Sağlıklı kontrol grubunu oluşturan 90 kişinin 73 (%81,1)'ü erkek, 17 (%18,8)'si kadındı (yaş ortalamaları=31,39±11,90). Hastaların 81 (%90)'i akciğer TB'si iken 9 (%10)'u akciğer dışı TB olarak tespit edildi. Hastaların 85 (%94)'i yeni tanı konmuş TB hastası iken, 5 (%6)'inde daha önceden geçirilmiş TB öyküsü (nüks TB) olduğu belirlendi. Hastaların 58 (%64)'inde asido rezistan basil pozitifliği belirlendi.

SOCS-1 geni promotör bölgesinde bulunan -1478 CA/del SNP için hasta ve sağlıklı kontrol grubu Hardy- Weinberg dengesinde bulunurken, gruplar arasında allel sıklığı (p= 0.327) ve genotip dağılımı (p=0,291) bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir. SOCS-1 geni ekson2'de bulunan 1335G/C SNP analizi sonucunda hasta ve kontrol grubunun tamamında C alleli bulunmuş olup, istatistiksel değerlendirme yapılamamıştır. Sonuç olarak çalışmaya dahil edilen bu grupta sitokin sinyalinin negatif düzenleyicisi olan SOCS-1 gen bölgesinde araştırılan SNP'lerin varlığı ile TB'ye direnç ya da duyarlılık arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bu konunun daha iyi anlaşılabilmesi için hasta grubunun ve kontrol grubunun genişletilerek, SOCS-1 geninde ve hatta SOCS ailesinin diğer üyelerinde tespit edilen ve anlamlı bulunan polimorfizmlerin araştırılması ve SOCS-1 mRNA düzeyinde analiz yapılması önerilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** İnflamasyon, Polimorfizm, PZR-RFLP, SOCS-1, Tek Nükleotid Polimorfizm, Tüberküloz,

**Danışman:** Doç. Dr. A. Ata ÖZÇİMEN, Mersin Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı, Mersin.

**İkinci Danışman:** Prof. Dr. Gönül ASLAN, Mersin Üniversitesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mersin.

## ABSTRACT

### INVESTIGATION of SOCS-1 GENE POLYMORPHISMS IN TUBERCULOSIS PATIENTS

Tuberculosis (TB) is an infectious disease caused by a group of mycobacteria known as *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC). The biological structure of the host, environmental conditions, socioeconomic factors play a major role in the development and progression of the disease. The fact that 23% of the world's population is infected with bacteria and about 5-10% of infected people develop active disease suggests that the individual may be genetically susceptible. In this study, it was aimed to investigate the presence of Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) in SOCS-1 which is a family of cytokine signal suppressor (SOCS) by using Polymerase Chain Reaction (PCR) and Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) methods. In this study, single nucleotide polymorphisms of 1335 G/C (rs11549428) found in exon2 and -1478 CA/del (rs rs33989964) in the SOCS-1 gene promoter region were examined.

Ninety patients with isolated MTBC in clinical material were included in the study. The 69 (76.6%) of them were male and 21 (23.3%) were female (mean age =  $39.38 \pm 17.54$ ). Of the 90 healthy controls, 73 (81.1%) were male and 17 (18.8%) were female (mean age =  $31.39 \pm 11.90$ ). While 81 (90%) of the patients had pulmonary TB, 9 (10%) had extrapulmonary TB. While 85 (94%) of the patients had newly diagnosed TB, 5 (6%) had a history of previous TB (recurrence TB). Acid-resistant bacilli positivity was determined in 58 (64%) of the patients. In conclusion, no statistically significant correlation was found between the presence of SNPs investigated in the SOCS-1 gene region, which is the negative regulator of cytokine signal, and resistance or susceptibility to TB in this group.

For the -1478 CA / del SNP located in the promoter region of the SOCS-1 gene, the patient and healthy control group were in Hardy-Weinberg equilibrium, but there was no statistically significant relationship between allele frequency ( $p = 0.327$ ) and genotype distribution ( $p = 0.291$ ). As a result of 1335G / C SNP analysis found in exon2 of SOCS-1 gene, C allele was found in all patients and control group and no statistical evaluation could be made. As a result, no statistically significant difference was found between the presence of SNPs investigated in the SOCS-1 gene region, which is the negative regulator of cytokine signal, and resistance or susceptibility to TB in this group included in the study. In order to better understand this issue, it is suggested that the patient group and control group should be expanded and the polymorphisms detected in the SOCS-1 gene and even other members of the SOCS family found to be significant and analyzed at SOCS-1 mRNA level.

**Keywords:** Inflammation, Polymorphism, PCR-RFLP, SOCS-1, Single nucleotide polymorphism, Tuberculosis

**Advisor:** Assoc. Prof. A. Ata ÖZÇİMEN, Department of Biology, University of Mersin, Mersin.

**Second Advisor:** Prof. Gönül ASLAN, Department of Medical Microbiology, University of Mersin, Mersin.

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam boyunca bilgi ve birikimiyle yardımlarını ve desteğini esirgemeyen, ihtiyacım olan her konuda beni yönlendiren değerli hocalarım, tez danışmanım Doç. Dr. Ahmet Ata ÖZÇİMEN'e ve ikinci danışmanım Prof. Dr. Gönül ASLAN'a,

Tez çalışmam süresince gerekli örneklerin toplanmasında yardımcı olan Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Mukadder ÇALIKOĞLU'na,

Tezimin deneysel aşamasında karşılaştığım sorunların çözümünde bana yardımcı olan, beni sabırla dinleyen ve yol gösteren Doç. Dr. Seda TEZCAN ÜLGER ve Dr. Öğr. Üyesi Mahmut ÜLGER'e;

Tezimin bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi konusundaki yardımlarından dolayı Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Asena Ayça ÖZDEMİR'e;

Tez çalışmalarımda bana yardımcı olan, deneyimlerinden faydalandığım ve desteğini gördüğüm Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda ve laboratuvarında görev yapan tüm arkadaşlarıma,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her aşamasında olduğu gibi yüksek lisans eğitimim süresince hep yanımda olan ve beni manevi açıdan sürekli olarak destekleyen eşime, çocuklarıma ve aileme;

Sonsuz teşekkür ederim.

Bu yüksek lisans tez çalışması Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'nce 2018-1-TP2-2827 Proje Numarası ile desteklenmiştir.

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
İÇ KAPAK	ii
ONAY	iii
ETİK BEYAN	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	ix
TABLOLAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
KISALTMALAR ve SİMGELER	xii
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI</b>	<b>3</b>
2.1. Tarihçe	3
2.2. Epidemiyoloji	4
2.2.1. Dünyada TB	4
2.2.2. Türkiye’de TB	5
2.3. Tüberkülozda Bulaş Yolları	7
2.3.1. Tüberkülozda Risk faktörleri	8
2.4. Tüberküloz Patogenezi ve İmmünolojisi	8
2.4.1. TB patogenezi	8
2.4.2. TB immünolojisi	11
2.5. Sitokinler	13
2.6. Janus Kinaz Ailesi/Sinyal İletici ve Transkripsiyon Aktivatörleri	16
2.7. Sitokin Sinyal Baskılayıcı Ailesi (SOCS)	18
2.7.1. SOCS-1 Proteini ve İnflamatuar Etkisi	20
<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM</b>	<b>22</b>
3.1. Çalışma Grubunu Oluşturan Örnekler	22
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	23
3.2.1. Kullanılan Cihazlar	23
3.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	23
3.2.3. Kullanılan Boyalar	24
3.2.4. Kullanılan Besiyerleri	25
3.3. Yöntemler	25
3.3.1. Kart Test (TB Ag MPT64 Hızlı Tanı Testi)	25
3.3.2. Moleküler Analiz	25
3.3.2.1. Genomik DNA Eldesi	25
3.3.2.2. Tek Nükleotid Polimorfizmlerinin Belirlenmesi	26
3.3.2.2.1. SOCS-1 Geni Promotör -1478CA/del (rs33989964) Tek Nükleotid Polimorfizmi	26
3.3.2.2.2. SOCS-1 Geni 1335 G/C (rs11549428) Tek Nükleotid Polimorfizmi	28
3.3.2.3. Agaroz Jel Elektroforez İşlemi	30
3.3.2.4. Tek Nükleotid Polimorfizminden Sorumlu Gen Bölgelerinin Tespiti	31
3.3.3. İstatistiksel Analiz	32
<b>4. BULGULAR ve TARTIŞMA</b>	<b>33</b>
4.1. Hasta ve Sağlıklı Kontrol Grubunun Genel Özellikleri	33
4.2. Bulgular	34
4.2.1. SOCS-1 Geni Promotör -1478 CA/del Tek nükleotit Polimorfizm Sonuçları	34
4.2.2. SOCS-1 Geni Ekson2 1335 G/C Tek Nükleotid Polimorfizmi Sonuçları	38



	<b>Sayfa</b>
4.3. Tartışma	40
<b>5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER</b>	<b>46</b>
KAYNAKLAR	47
ÖZGEÇMİŞ	55



## TABLolar DİZİNİ

	<b>Sayfa</b>
Tablo 3.1. SOCS-1 Geni Promotör -1478 CA/del (rs33989964) Tek Nükleoti Polimorfizmi PZR-RFLP yönteminde kullanılan primer dizileri	26
Tablo 3.2. SOCS-1 Geni Promotör -1478 CA/del polimorfizmi PZR reaksiyon karışımı	27
Tablo 3.3. SOCS-1 Geni Promotör -1478 CA/del polimorfizmi amplifikasyonunda kullanılan PZR koşulları	27
Tablo 3.4. SOCS-1 Geni Promotör -1478 CA/del polimorfizmi RFLP reaksiyon karışımı	27
Tablo 3.5. SOCS-1 Geni Promotör -1478 CA/del polimorfizmi restriksiyonunda kullanılan RFLP koşulları	28
Tablo 3.6. SOCS-1 Ekson2 1335 G/C (rs11549428) Tek Nükleotid Polimorfizmi PZR RFLP yönteminde kullanılan primer dizileri.	28
Tablo 3.7. SOCS-1 Geni Ekson2 1335 G/C polimorfizmi PZR reaksiyon karışımı	29
Tablo 3.8. SOCS-1 Geni Ekson2 1335G/C polimorfizmi amplifikasyonunda kullanılan PZR koşulları	29
Tablo 3.9. SOCS-1 Geni Ekson2 1335G/C polimorfizmi RFLP reaksiyon karışımı	29
Tablo 3.10. SOCS-1 Geni Ekson2 1335G/C polimorfizmi restriksiyonunda kullanılan RFLP koşulları	30
Tablo 4.1. Çalışmaya dahil edilen hasta ve sağlıklı kontrol gruplarının yaş ve cinsiyet dağılımı	33
Tablo 4.2. Hasta grubunu oluşturan 90 kişinin tanısı	33
Tablo 4.3. Tutulum yeri, cinsiyet ve ARB sonuçlarına göre hastaların dağılımı	34
Tablo 4.4. Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarındaki SOCS-1 Geni Promotör -1478 CA/del genotip ve allel dağılımı	35
Tablo 4.5. TB tanılı 90 hastanın ARB sonuçlarına göre allel ve genotip dağılımı	36
Tablo 4.6. Akciğer TB tanısı alan 81 hastanın ARB sonuçlarına göre allel ve genotip dağılımı	36
Tablo 4.7. SOCS-1 Geni Promotör -1478 CA/del polimorfizminin kadın cinsiyetine göre allel ve genotip dağılımları	37
Tablo 4.8. SOCS-1 Geni Promotör -1478 CA/del polimorfizminin erkek cinsiyetine göre allel ve genotip dağılımları	37
Tablo 4.9. SOCS-1 Geni Promotör -1478 CA/del polimorfizm sonuçlarının Akciğer ve Akciğer dışı hasta örneklerine göre allel ve genotip dağılımları	38
Tablo 4.10. Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarındaki SOCS-1 Geni Ekson2 1335 G/Cgenotip dağılımı	39

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. JAK geninin yapısı	16
Şekil 2.2. STAT molekülünün yapısal organizasyonu	17
Şekil 2.3. JAK/STAT sinyal iletiminin genel şeması	17
Şekil 2.4. SOCS protein ailesinin domein yapısı ve sınıflandırılması	18
Şekil 2.5. SOCS Proteinlerinin Etki Mekanizması	19
Şekil 3.1. -1478 CA/del ve 1335 G/C SNP'lerinin bant paternleri	32
Şekil 4.1. SOCS-1 Geni Promotör -1478 CA/del tek nükleotid polimorfizminden sorumlu gen bölgesinin primer spesifik PZR yöntemi ile amplifikasyonu sonrası oluşan 250 bç'lik bölgenin %1'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü	34
Şekil 4.2. SOCS-1 Geni Promotör -1478 CA/del tek nükleotid polimorfizmi PZR ürünlerinin <i>DdeI</i> restriksiyon enzimi ile kesimi sonucu oluşan fragman uzunluklarının %2'lik agaroz jel elektroforezi görüntüsü.	35
Şekil 4.3. SOCS-1 Geni 1335 G/C tek nükleotid polimorfizminden sorumlu gen bölgesinin primer spesifik PZR yöntemi ile amplifikasyonu sonrası oluşan 439 bç'lik bölgenin %1'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü	38
Şekil 4.4. SOCS-1 Geni 1335 G/C tek nükleotid polimorfizminden sorumlu gen bölgesi PZR ürünlerinin <i>Hpy188III</i> restriksiyon enzimi ile kesimi sonucu oluşan fragman uzunluklarının %2'lik agaroz jel elektroforezi görüntüsü	39

## KISALTMALAR ve SİMGELER

Kısaltma/Simge	Tanım
CIS	Sitokinle İndüklenebilir SH2 Domeni
ÇİD TB	Çok İlaça Dirençli Tüberküloz
DH	Dentritik Hücre
DMSO	Dimetilsülfoksit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
HIV/AIDS	İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü
IFN- $\gamma$	İnterferon Gama
IL	İnterlökin
JAK	Januse Kinaz
MHC	Major Histocompatibility Complex
MTBC	<i>Mycobacterium tuberculosis complex</i>
NF-KB	Nükleer Faktör Kappa B
NK	Doğal Öldürücü Hücre
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SOCS	Sitokin Sinyal Baskılayıcı
STAT	Sinyal İletim ve Transkripsiyon Aktivatörü
SNP	Tek Nükleotit Polimorfizmi
TDT	Tüberküloz Deri Testi
TB	Tüberküloz
Th1	Yardımcı T Hücre 1 (Th1)
Th2	Yardımcı T Hücre 2 (T helper 2)
TNF- $\alpha$	Tümör Nekrozis Faktör Alfa
VSD	Verem Savaş Dispanseri

## 1. GİRİŞ

Tüberküloz (TB), filogenetik olarak yakın olan çeşitli mikobakteri suşlarının neden olduğu küresel bir hastalıktır. *Mycobacterium tuberculosis*, *M. africanum*, *M. caprae*, *M. microti*, *M. bovis*, *M. pinnipedii* gibi türler TB hastalığına yol açmakta ve *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) olarak adlandırılmaktadır. Bunlardan *M. tuberculosis* insanda en çok hastalığa yol açan türdür. İnsan ile beraber evrimini sürdüren TB basili bugün dünya nüfusunun %23'ünü latent olarak enfekte etmiştir ve dünya genelinde enfeksiyon hastalıklarından kaynaklanan ölümlerin ilk 10 nedeninden biridir. Enfekte kişilerin yaklaşık %90'ı asemptomatiktir ve enfekte bireylerin %5'inde primer TB, diğer %5'inde ise yaşamın ilerleyen yıllarında sekonder TB gelişmektedir. TB için iyi bilinen çevresel ve sosyo-ekonomik risk faktörlerine ek olarak, son zamanlarda küresel TB pandemisini tetikleyen İnsan İmmünyetmezlik Virüsü (Human Immunodeficiency Virus-HIV) ve antimikrobiyal direnç gibi yeni güçlerin ortaya çıktığı görülmüştür [1, 2]. Hastalığa yatkınlık veya dirençle ilgili iki fare suşunun *M. tuberculosis*'e karşı dirençlerinde belirgin farklılık saptanması [3] ve homozigot ikizlerde TB'ye duyarlılık durumu benzerken, dizigot ikizlerde bu uyumun daha az olması enfeksiyona karşı konak immün yanıtını kontrol eden gen/genler'in varlığı yönünde güçlü kanıtlar sağlamıştır [4].

Sitokinler, çeşitli immün ve immün olmayan hücrelerin gelişimini ve fonksiyonunu kontrol etmede önemli rol oynayan, protein, peptid veya glikoprotein yapıda olan moleküllerdir. İmmün yanıt, inflamasyon ve hematopoez'in önemli mediatörü ve regülatörü olan bu moleküller, makrofajlar, T lenfositler, B lenfositler ve mast hücreleri gibi bağışıklık hücreleri tarafından üretilen, doğal ve kazanılmış bağışıklıkta dahil olmak üzere pekçok fizyolojik süreçte işlev gören önemli mediatörlerdir. Ekstraselüler hücrelerel sinyal iletiminden sorumludurlar. Birçok biyolojik mekanizmada olduğu gibi inflamatuvar hastalıkların ilerleyişinde de immün mediatör olarak sitokinlerin rolü yadsınamaz. TB enfeksiyonuna karşı immün yanıtta önemli rol oynayan pro-inflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinlerin dengede olması hastalığın ilerleyişi açısından önemlidir [5-7]. Sitokin sinyalinin negatif düzenleyicileri olan Sitokin sinyal baskılayıcısı (SOCS) ailesinin üyeleri, Januse Kinaz/Sinyal İletim ve Transkripsiyon Aktivatörü (JAK/STAT) sinyal yolağı aracılığı ile sitokin sinyalinin inhibisyonunu sağlarlar. SOCS ailesi üyelerinden üzerinde en çok çalışılanları SOCS-1 ve SOCS-3'tür. Son çalışmalarda, periferal kan mononükleer hücrelerinde SOCS-1 ve SOCS-3 düzeyinin TB enfeksiyonu olan kişilerde sağlıklı kişilere oranla daha yüksek olduğu ortaya konulmuştur [8, 9]. Özellikle TB lenfadenitli kişilerde SOCS-1 proteinin granulomlardaki kazeöz nekroz ile ilişkili olduğu belirtilmiştir [10-12]. SOCS-1 proteinleri STAT1 molekülünü inhibe ederek interferon gama (IFN- $\gamma$ ) gen ekspresyonunu baskılamış olur. SOCS-1,

SOCS-1<sup>-/-</sup> farelerde doğumdan 3 hafta sonra şiddetli lenfopeni, karaciğer nekrozu, organlarda mononükleer infiltrasyon sonucu ölüme yol açtığı yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir [11, 13].

Bu çalışmada; Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Göğüs Hastalıkları Polikliniği'ne başvurup TB şüphesi üzerine Mikrobiyoloji Laboratuvarına klinik örneği gönderilen ve TB tanısı almış olan hastalardan periferik kan örnekleri toplanıp ardından DNA izolasyonu yapıldı. SOCS-1 gen lokusu taranarak, tek nükleotid polimorfizmi (Single Nucleotide Polymorphisms-SNP) bakımından genotipik farklılıklar tespit edildi. SOCS-1 geni promotör bölgesinde bulunan -1478 CA delesyonu (rs33989964) ve ekson2'de bulunan 1335 G/C (rs11549428) tek nükleotid polimorfizm varlığı; Polimeraz Zincir Reaksiyonu-Restriction Fragment Length Polymorphism (PZR-RFLP) yöntemleri kullanılarak araştırıldı. Bu SNP'lerin hastalıkla olan ilişkisi, hastalığa yatkınlık ya da dirençte ne yönde etki ettikleri sorularına cevap arandı. Yapılan deneyler ve istatistiksel analizler sonucunda araştırılan -1478 CA/del ve 1335 G/C SNP'nin allel sıklığı ve genotip dağılımları bakımından hastalığa olan yatkınlıkla ilişkilerinin olmadığı tespit edilmiştir.

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

### 2.1. Tarihçe

Üç yüz milyon yıldır varlığını sürdüren *M. tuberculosis*, doğada, toprakta, sulara, petrol atıklarında, iç içe yaşadığımız çevrede bolca bulunmaktadır [14]. İnsanlığın varlığıyla beraber ortaya çıktığı düşünülen TB ile ilgili birçok kanıt mevcuttur. İnsanların TB basili ile tanışması M.Ö. 8000 yılına dayanmaktadır. Almanya’da bulunan insan iskeletinde (M.Ö. 5000) aside dirençli basil varlığı; M.Ö. 4000 ile 2400 yıllarında Eski Mısır’da bulunan mumyalardan kalan organik materyalden Aside Dirençli (Resistan) Boyama (ARB), PZR ve IS6110-RFLP yöntemleri ile TB varlığı; M.Ö 3500-3000 yıllarına ait kemik kalıntılarında Pott hastalığı bulgularına bağlı olarak TB varlığı; M.Ö. 1500 yıllarına ait Nil nehri kıyısında bulunan bir mezardaki yazılı bir belgede lenf bezinde TB varlığı; eski dönemlere ait TB ile ilgili bilgi sağlamaktadır [15, 16].

Tüberküloz (verem) terimine ilk olarak Yunan yazılı belgelerinde rastlanmıştır. Milattan önce 460 yıllarında, Hipokrat veremi en yaygın görülen hastalık olarak tanımlamıştır [15]. TB’nin bulaşıcılığı ile ilgili en erken atıflar 17. yüzyılda İtalyan tıbbi literatüründe gözlenmektedir. 1699’da Lucca Cumhuriyeti tarafından verilen bir ferman, “... Bundan böyle, insan sağlığı artık veremlilerin ölümünden sonra kalan enfeksiyöz ajanlardan dolayı tehlikede olmamalıdır. Verem nedeniyle ölen kişilerin isimleri yetkililere bildirilmeli ve dezenfeksiyon için önlemler alınmalıdır.” şeklindedir [17].

Günümüze yaklaştığımızda ise 17.yy’da başlayıp 19.yy’a kadar devam eden bir verem salgını Avrupa’da baş göstermiştir [18]. Robert Koch (1843-1910), 1882 yılında izole ettiği TB basilini, hayvan serumunda kültüre edip tanımlamıştır. İzole basili yeniden bir hayvana inoküle ettiğinde ise hastalığın tekrar ortaya çıktığını göstererek “Koch Postulasını” bilim dünyasına kazandırmıştır. Koch’un bu keşfine kadar TB kalıtsal bir hastalık olarak kabul edilmekteydi. Bu keşifleri takip eden yıllarda Pirquet ve Mantoux tüberkülin deri testini (TDT) ve Albert Calmette, Camille Guérin Bacillus Calmette-Guerin (BCG) aşısını geliştirmişler, Selman Waksman’ın ise streptomisini keşfi ile antibiyoterapi dönemi başlamıştır. İzleyen yıllar içinde keşfedilen yeni antibiyotikler de tedaviye eklenmiştir [19].

Son yıllarda yapılan moleküler genetik çalışmalar ise insanlarda TB’nin en yaygın sebebi olan *M. tuberculosis*’in yaklaşık 3 milyon yıllık bir geçmişe sahip olduğunu düşündürmektedir [20]. TB sebebinin bilinmesine, tedavi edilebilir ve önlemler alındığı takdirde önlenabilir olmasına rağmen halen dünyada en yaygın ve ölümcül bulaşıcı hastalıklardan biri olmaya devam etmektedir [21].

## 2.2. Epidemiyoloji

*M. tuberculosis*, dünyadaki en başarılı patojenlerden biri olup, binlerce yıllık geçmişe sahiptir, günümüz dünyasında tahminen 2 milyar insan bu basil ile enfektedir. Her yıl yaklaşık 9 milyon yeni TB vakası ile birlikte, popülasyonun yaklaşık %23'ü aktif hastalık geliştirme riski altındadır [22]. *M. tuberculosis* ile enfekte olan, bağışıklık sistemi baskılanmamış kişilerin %10'undan azında klinik TB gelişmektedir. Geriye kalan klinik TB gelişmeyen %90'lık kısmın daha da artırılması araştırma konularını oluşturmaktadır [23]. TB basili, konakçı hücrelerde uzun yıllar latent olarak canlı kalabilmekte ve fırsatını bulduğu bir sırada hastalık geliştirebilmektedir. Bu nedenle basilin eradikasyonu oldukça zordur [18].

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün her yıl yayınlanan raporunda küresel olarak TB insidansında yılda yaklaşık %2 oranında azalma olduğu bildirilmektedir. TB'yi küresel bir sağlık sorunu olmaktan çıkarmaya yönelik yürütülen çalışmalardan biri olan "End-TB" stratejisinin 2020 hedefleri arasında, insidanstaki düşüş hızının %4-5'lere ulaşması yer almakta ve bu yönde çalışmalar sürdürülmektedir [24].

### 2.2.1. Dünyada TB

Hastalığın temel biyoloji ve epidemiyolojisinin anlaşılmasıyla beraber hastalığa karşı farkındalık artmıştır, fakat henüz küresel TB yükünde etkin bir azalma sağlanamamıştır. TB insidansı birçok ülkede stabilize edilmiş gibi görünmektedir ancak nüfus artışının yoğun olduğu bölgelerde TB vakası artmaya devam etmektedir. Özellikle, Çok İlaça Dirençli (ÇİD) TB'nin devam eden salgınları, ayrıca TB ile HIV/AIDS'in birlikte daha ölümcül oluşu ve diyabet gibi risk faktörleri hastalığın eradikasyonunu daha da zorlaştırmaktadır [25].

DSÖ TB tanı, tedavi ve hastalığın önlenmesi amacıyla çeşitli stratejiler ve hedefler geliştirmiştir: Doğrudan Gözetimli Tedavi Stratejisi (DGTS), STOP TB stratejisi, Binyıl Kalkınma Hedefleri, Sürdürülebilir Kalkınma Hedefleri, END TB Stratejisi bu stratejilerdendir.

Geliştirilen stratejiler doğrultusunda; doğru, zamanında teşhis ve tedavi ile 2000-2017 yılları arasında yaklaşık 54 milyon kişinin ölümü önlenmiştir. 2017 yılında az sayıda tanı teknolojisi ortaya çıkmıştır ve hızlı moleküler testler ve hızlı direnç testi için tasarlanan GeneXpert Omni®'nin değerlendirilmesi gecikmiştir. Faz I, II ya da III denemelerinde sekiz yeni bileşik içeren 20 ilaç bulunmaktadır. Faz I'de üç, Faz II veya Faz III'te dokuz olmak üzere 12 aday çalışması vardır [26].

DSÖ'nün yeni verileri, küresel TB yükünün daha önce tahmin edilenden daha yüksek olduğunu ortaya koymaktadır. Ülkelerin önümüzdeki 15 yıl içinde "END TB Stratejisi" hedeflerine



ulaşamaması durumunda TB'yi önlemek, tespit etmek ve tedavi etmek için daha hızlı hareket etmeleri gerekmektedir [27, 28]. Bugün TB kontrolünün etkinliğini ölçmek için, vaka bulma oranı, tedavi başarısı, insidans, prevalans ve ölüm oranı gibi kriterler üzerinde durulmaktadır [29, 30]. TB, Dünya çapında enfeksiyon kaynaklı ölümlerin önde gelen on nedeninden biridir. DSÖ Küresel TB Kontrolü 2018 Raporu verilerine göre;

- 2017 yılında, en iyi tahminle 10 milyon yeni TB olgusu varlığı düşünülmektedir (insidans 100.000'de 133). Fakat bildirilen 6,4 milyon vaka vardır.
- 2017 yılında, TB HIV-negatif insanlar arasında tahmini 1,3 milyon, HIV pozitif kişiler arasında 300.000 ölüme yol açtığı tahmin edilmektedir.
- Tahmin edilen vaka sayısının büyük çoğunluğu Güneydoğu Asya (%44), Afrika (%25) ve Batı Pasifik Bölgesi'nde (%18) gerçekleşmiştir; Dünyadaki tahmini vakaların %87'sini TB yükünün fazla olduğu sekiz ülke oluşturmaktadır: Hindistan (%27), Çin (%9), Endonezya (%8), Filipinler (%6), Pakistan (%5), Nijerya (%4), Bangladeş (%4) ve Güney Afrika (%3).
- 2017 yılında, 558.000 vakanın en etkili birinci seçenek ilaç olan rifampisine dirençli olduğu ve bunların %82'sinin de ÇİD-TB olduğu düşünülmektedir. Bu vakaların yaklaşık yarısı (%47) Hindistan, Çin ve Rusya Federasyonu'nda bulunmaktadır.
- Küresel olarak 2017 yılında, yeni vakaların tahmini %3,5'i ve daha önce tedavi görmüş vakaların %18'i ÇİD-TB'dir. ÇİD vakaların %8,5'inin de yaygın ilaca dirençli olduğu tahmin edilmektedir.
- HIV negatif insanlar arasında TB mortalite oranı 2000-2017 yıllarında dünya genelinde %42 oranında azalmıştır [26].

### **2.2.2. Türkiye'de TB**

Küresel Tüberküloz 2018 Raporunda Türkiye'nin 2017 yılı tahmini insidans hızı yüz binde 17 ve tahmini mortalite hızı yüz binde 0,53 olarak verilmiştir. Türkiye'nin, 2016 yılında yeni+nüks olgularda tedavi başarısı %87 ve önceden tedavi görmüş olgularda tedavi başarısı %51'dir. Kayıtlara giren olgu sayısı 12.046'dır [31]. DSÖ TB 2018 raporunda, Türkiye'nin de içinde bulunduğu Avrupa bölgesinde, HIV-negatiflerde TB mortalite hızı yüzbinde 2,6; HIV pozitif olgularda yüzbinde 0,54 olarak tahmin edilmiştir. Toplam nüfusta TB insidansı yüz binde 30 olarak tahmin edilmiştir [26]. Türkiye'de Verem Savaş Raporu 2017 verilerine göre:

## **2015 Yılı Tüberküloz Hasta Verileri**

Toplam 12.772 TB hastası 2015 yılında Verem Savaşı Dispanseri (VSD) kayıtlarına girmiştir. Toplam olgu hızı yüz binde 17,2'den yüz binde 16,2'ye (-%5,8) gerilemiştir. Toplam 12.772 hastada yeni olguların oranı %92,4 (11.803) iken önceden tedavi görmüş olguların oranı %7,6'dır (969). Önceden tedavi görmüş olguların toplam hasta içindeki oranları; %5,8 (747)'i nüks, %1,2 (156)'si tedaviyi terkten dönen, %0,5 (64)'i tedavi başarısızlığından gelen %0,02 (2)'si kronik olgu olarak raporlanmıştır [32].

Hastaların %59,5 (7.598)'i akciğer tutulumu, %35,6 (4.548)'sı akciğer dışı organ tutulumu, %4,9 (626)'u hem akciğer hem de akciğer dışı tutulum göstermiştir. Akciğer dışı organ TB'si olgularında en sık ekstratorasik lenf bezleri (%30,2) ve plevra (%24,8) tutulumu olduğu tespit edilmiştir [32].

2015 yılında akciğer TB'si olan 8.224 hastada yapılan bakteriyolojik tetkikler incelendiğinde; mikroskopi yapılma oranı %89,2 (7.336), mikroskopi yapılanlar içinde mikroskopi pozitiflik oranı %64,0 (4.695); kültür yapılma oranı %80,6 (6.631), kültür yapılanlar içinde kültür pozitiflik oranı %84,2 (5.582); kültür pozitif olgularda ilaç duyarlılık testi yapılma oranı ise %94,4 (5.267) bulunmuştur [32].

İlaç duyarlılık testi yapılan toplam 5.648 hastanın (5.267 akciğer +381 akciğer dışı) sonuçları incelendiğinde; %21,3'ünde (1.205/5.648) en az bir ilaca direnç saptanmıştır. En yüksek oranda direncin %13,7 ile izoniyazide karşı geliştiği (774/5.648) görülmüştür. İzonyazid ve rifampisin için (her ikisine) ilaç duyarlılık testi yapılan 5.629 olgunun 230'unun (%4,1) ÇİD-TB olduğu tespit edilmiştir. İlaç duyarlılık testi yapılanlarda ÇİD-TB oranı yeni olgularda %2,5 (127) iken, önceden tedavi görmüş olgularda %17,8 (103) olarak saptanmıştır. ÇİD-TB olgularından 3'ü yaygın ilaca dirençli TB'dir (1 yeni olgu, 2 başarısızlıktan gelen olgu). Toplam 12.772 TB olgusundan 61'inin HIV (+) olduğu tespit edilmiştir [32].

VSD'de 2015 yılında kayıt altına alınan yabancı ülke doğumlu hastaların sayısı 872 olup bunların %56,1 (489)'i Suriye doğumludur. Yabancı ülke doğumlu hastaların %83,6 (729)'sı Asya, %9,4 (82)'ü Avrupa, %6,7 (58)'si Afrika ve %0,3 (3)'ü Amerika kıtası ülkelerindedir [32].

Temel Sağlık İstatistikleri Modülü üzerinden alınan VSD 2017 yılı verilerine göre dispanserlerde kayıt altına alınan hastaların 2010 yılında %97,9'unun, 2011 yılında %98,2'sinin, 2012 yılında %99,0'unun, 2013 yılında %98,3'ünün, 2014 yılında %99,1'inin, 2015 yılında %98,9'unun, 2016 yılında ise %99,2'sinin tedavilerine doğrudan gözetim altında başlanmıştır [32].

Yurt genelinde 2016 yılında gezici ekipler tarafından 233.874 kişinin röntgen taraması gerçekleştirilmiştir. Yapılan taramalar sonucunda 6.252 TB şüphelisi saptanmış ve ileri tetkikler sonucunda 41 kişinin TB hastası olduğu tespit edilmiştir [32].

Mersin ilinde 2015 yılında yapılan 21.027 TB şüpheli hasta muayenesi ve 1.743 temaslı muayenesinin ardından 185 TB (104 erkek, 81 kadın) olgusu tespit edilmiştir. Olgu hızı 10,6 olarak bulunmuş, Türkiye genelinde ise olgu hızı 16,2'dir. Bunlardan 104 (%56,2)'ü akciğer TB, 71 (%38,4)'i akciğer dışı TB ve 10 (%5,4)'ü akciğer + akciğer dışı TB dir. Toplam 114 akciğer (akciğer olguları + "akciğer + akciğer dışı") TB'li hastanın 96'sına yayma yapılmış ve 75'i yayma (+) bulunmuş. Bunlardan 84'üne kültür yapılmış ve 76'sı kültür (+) bulunmuş. Bunların 73'üne de ilaç duyarlılık testi yapılmıştır. Hastalardan 176 (%95,1)'sı yeni olgu, 8 (%4,3)'i nüks ve 1 (%0,5)'i tedavi terkten dönmüştür. Tedaviye alınan temaslı koruyucu sayısı 280 dir. Mersin ilinde 2014 yılında, 228 toplam olgudan 196 (%86)'sında tedavide başarı sağlanmıştır, 4'ü tedaviyi terk etmiştir, 10 ölüm vakası gerçekleşmiştir ve 18'i tedaviye devam etmiştir [32].

DSÖ'nün 2015 Raporuna göre Türkiye'de ÇİD-TB oranı yeni olgularda %2,5, önceden tedavi görmüş olgularda %18'dir. Sağlık Bakanlığı, TB insidansını 2017 yılında 100.000'de 16'ya, 2023 yılında 100,000'de 12'ye indirmeyi hedeflemiştir. [21].

### 2.3. Tüberkülozda Bulaş Yolları

TB hastalığının bulaşıcılığını ilk tanımlayan Aristo'dur. TB'nin inhalasyon ile bulaşmasının mekanizmaları 1930'lu yıllarda Wells ve arkadaşları tarafından "damlacık çekirdekleri ile bulaşma" teorisi ile açıklanmıştır [33]. TB hastalığının, akciğer veya larenks TB'li hastaların öksürük, hapşırma, konuşma, şarkı söylemeleri sonucu havaya yayılan damlacıkların solunum yoluyla alınması neticesinde bulaştığı bilinmektedir [34, 35].

TB hastalığında en bulaştırıcı kaynak yayma pozitif olan akciğer ve larenks TB'li olgulardır. TB bulaşını çevresel faktörler, maruziyet süresi ve yoğunluğu ile TB basiline ve hedef kişinin özellikleri etkilemektedir. Akciğer dışı TB bulaştırıcılığı oldukça azdır, bulaşmanın olabilmesi için otopsi sırasında ya da doku ile yapılan çalışmalarda aerosol oluşumu görülmesi gereklidir. Basil solunum yolu dışında, sindirim, deri, genitoüriner sistem, konjunktivadan da vücuda girebilir [36, 37].

Verem mikrobunu saçan hastaların tedavisi, toplumun korunmasında en önemli yoldur. Ayrıca hasta yakınlarına ve hastayla riskli temas öyküsü olan kişilere koruyucu ilaç tedavisinin verilmesi %60-90 düzeyinde hastalıktan koruyucudur [38].

### 2.3.1. Tüberkülozda Risk Faktörleri

TB basili vücuda girer girmez enfeksiyona yol açabilir ya da bağışıklık yanıtı ile basil çoğalmasa baskılanabilir ve latent enfeksiyon gelişebilir. Bu şekilde enfekte olan kişilerde yıllar sonra çeşitli sebeplerden dolayı bağışıklık sistemi zayıflar ve hastalık tablosu gelişebilir [39].

Genel olarak, TB hastalığına yakalanma riski yüksek olan kişiler iki kategoriye ayrılırlar:

1) Yakın zamanda TB basili ile enfekte olmuş kişiler: Aktif hasta ile yakın temasta bulunanlar, yüksek TB oranına sahip bölgelerden göç eden kişiler, TDT pozitif olan 5 yaşından küçük çocuklar [37, 39].

2) Bağışıklık sistemini zayıflatan tıbbi rahatsızlığı olan kişiler: HIV enfeksiyonu, madde bağımlılığı (alkolizm-risk 10 kat fazla), evsizlik, hapis hane yaşamı, malnütrisyon, silikozis, şeker hastalığı, şiddetli böbrek hastalığı, düşük vücut ağırlığı, baş ve boyun kanseri, kortikosteroidler veya organ nakli gibi tıbbi tedaviler, romatoid artrit veya Crohn hastalığı için özel tedavi alan kişiler [37, 39].

### 2.4. Tüberküloz Patogenezi ve İmmünolojisi

TB Primer enfeksiyon dönemi ve reenfeksiyon dönemi olmak üzere iki dönem halinde kendini gösteren bir hastalıktır.

1. Primer enfeksiyon dönemi, basille ilk kez karşılaşan kişide görülen enfeksiyon şeklidir. Bu kişilerin %90-95'i asemptomatiktir, tek bulgu TDT'nin pozitif olmasıdır.
2. Reenfeksiyon dönemi, primer enfeksiyondan yıllar sonra dormant halde olan basillerin tekrar metabolik olarak aktive olduğu dönemdir (Endojen) ya da eksojen yol ile yeni bir bulaş söz konusu olabilir. Yapılan moleküler epidemiyolojik çalışmalar özellikle yüksek prevalanslı toplumlarda eksojen yolla hastalığın ortaya çıktığını desteklemektedir [35].

#### 2.4.1. TB Patogenezi

*M. tuberculosis* esas olarak akciğere inhale edilen ve mekanik mekanizmalarla temizlenen veya akciğer alveollerinde ve bronşiyollerde enfeksiyon oluşturabilen bir patojendir. *M. tuberculosis* enfeksiyonuna karşı konağın temel savunması, lenfositlerle çevrili, epitelioid ve çok çekirdekli dev hücreler de dahil olmak üzere, aktif makrofajlar tarafından organize edilmiş granülomların oluşumu şeklindedir [40]. Kaynak olgu tarafından etrafa saçılan damlacık çekirdeklerinin bir başka konak tarafından inhale edilmesi, basillerin akciğer alveollerine

ulaşması ile başlayan ve kavite oluşumuna kadar devam eden süreç 5 evre halinde incenebilir [41].

- **Evre I: Başlangıç Evresi (Birinci Hafta)**

Tipik olarak enfeksiyon, 1-3 basil içeren damlacık çekirdeklerinin inhalasyonu ile başlar. akciğer alveollerine ulaşan basiller konağın ilk savunmasını oluşturan doğal bağışıklık yanıtı olarak hem alveolar makrofajlar hem de dendritik hücreler tarafından fagosite edilir. Basiller makrofajların gösterdiği antimikrobiyal ve proinflamatuvar yanıtın durumuna göre ve basilin virülansına göre tamamen ortadan kaldırılabilir, çoğalması baskılanabilir ya da hızlıca çoğalıp makrofajı parçalayabilir [42-44]. Konağın genetik olarak duyarlılığıda bu aşamada önemlidir. Örneğin aynı oranda basile maruz kalan siyahilerin makrofajlarının beyaz ırka göre basili elimine etmede daha başarısız olduğunu kanıtlanmıştır [45].

- **Evre 2: Ortak Yaşam, Basillerin Çoğalma ve Yayılma Evresi (2. ve 3. Hafta)**

Bu evrede TB basili sadece hücre içinde çoğalabilir. Henüz aktive olmamış olan makrofajlar tarafından fagosite edilen basil, virülans faktörleri (kord faktör, sülfatidler ve diğer asidik lipidler) sayesinde [36] konak hücresel fonksiyonlarını bozarak, fagozom ile lizozom füzyonunu önler, amonyak üreterek ortam pH'sını düşürürken reaktif nitrik oksitleri inaktive eder, böylece öldürülmekten kurtulurlar [46, 47]. Basiller logaritmik olarak çoğalır, makrofajları parçalar ve alveoler boşluğa çıkararak inaktif makrofajları enfekte etmeye devam eder. Sonucunda küçük doku hasarları oluşur. Makrofajların basil ürünlerine maruziyet sonucu saldırdığı kemokinler enfeksiyon bölgesine lenfosit, nötrofil, monosit, fibroblast hücreleri ve diğer inflamatuvar hücrelerin göçünü sağlar. Bir süre sonra epiteloit histiyositler ve langerhans dev hücreleri oluşur, enfeksiyon odağındaki bu oluşum lenfositlerce çevrelenir ve basil yayılmasını durdurmak için TB'ye özgü olan granülom yapısı oluşmaya başlar [44, 48]. Basil yüklü makrofajlar logaritmik artışı önlemek için bölgesel lenf nodlarına giderler, halen basil çoğalmasının önüne geçilemez ise lenfo-hematojen yayılım gerçekleşir. Lenfo-hematojen yayılım sırasında basiller en çok akciğerlerin apekslerine, böbreklere, uzun kemiklere ve vertebralara yerleşir [36, 43]. Bu dönemde TDT negatiftir, kişiler hala asemptomatiktir [35, 49].

- **Evre 3: Enfeksiyonun Kontrolü Evresi/İmmünolojik Evre**

Basillerin alveollere gelmesinden 2-8 hafta sonra hücrel immün yanıt oluşur fakat basillerin hızlı çoğalmasını durdurmaya yetmez, basilin ürettiği tüberkülin benzeri protein gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonuna yol açar ve böylece granülomların merkezinde kazeöz nekroz (doku hasarı) oluşur. Oluşan kazeöz nekroz ortamında basiller, anoksik koşullar, düşük pH ve inhibitör yağ asitleri nedeniyle çoğalamazlar, yıllarca hatta yaşam boyu dormant halde kalırlar. Bu evrede TDT pozitifleşir. Konak bulaştırıcı değildir. Bu şekilde enfekte olan kişilerde hayat boyu aktif TB gelişme riski yaklaşık %10'dur [20, 41]. Konakçı tarafından oluşturulan hücrel immünite ve gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonları doku TB patogenezinde belirleyici rolü oynarlar. Bu immün yanıtlar oluşuncaya kadar TB basiline kendisi konakçı dokularında hiçbir hasar oluşturamaz. Basil çoğalması ile konağın oluşturduğu immünolojik yanıtlar arasındaki etkileşim hastalığın hem ilerlemesini veya gerilemesini hem de gelişecek olan hastalığın tipini belirler [48].

- **Evre 4: Hücrel İmmün Yanıt ile Gecikmiş Tip Aşırı Duyarlılık Arasında Etkileşim Evresi**

Granülomlarda kazeöz odağın etrafında toplanan aktif makrofajlar, buradan kaçan basilleri yakalar ve sindirirler. Eğer basil sindirilemez ve çoğalmaya devam ederse gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonu tekrarlanır ve doku harabiyeti artar. İmmün sistemi bir şekilde baskılanmış kişilerde, odaktan kaçan basiller makrofajlarca yakalansa da etkin olarak yok edilemezler. Bu makrofajlar yetersiz kaldığı için gecikmiş tip aşırı duyarlılık cevabının tekrar edilmesi söz konusudur. Bu yanıt tekrarlandıkça kazeöz nekrozlar genişler, akciğer doku hasarı sonucu primer hastalık oluşur. Lenfo-hematojen yolla basiller akciğerden vücudun diğer kısımlarına yayılır ve pulmoner ven duvarında oluşan kazeöz odağın tahribatı sonucu miliyer ve dissemine TB oluşur [41, 49].

- **Evre 5: Erime ve Kavite Oluşumu (Aylar veya Yıllar Sonra)**

Reenfeksiyon dönemi de denilen bu dönem, primer enfeksiyondan yıllar sonra dormant halde olan basillerin tekrar metabolik olarak aktive olduğu dönemdir (endojen) ya da eksojen yol ile yeni bir bulaş söz konusu olabilir [50]. Bazen hücrel immün yanıt yeterince güçlü olsa dahi primer enfeksiyon ilerlemeye devam edebilir, makrofajlardan salınan hidrolitik enzimlerin protein ve lipitleri hidrolize etmesi ile granülomlardaki kazeöz odaklarda erime (likeifikasyon)

sonucu kavite oluşumu görülebilir. Oluşan ortam basillerin çoğalması için uygun şartlardadır. Kavite oluşumu ile hastalığın bulaşıcılığı ve akciğere yayılımının önü açılmış olur [18].

#### 2.4.2. TB İmmünolojisi

Konağın immün sistemi ve basilin virülansı hastalığın yönünü belirleyecek olan önemli faktörlerdendir. *M. tuberculosis*'e karşı immün yanıt kısmen etkilidir, bu immün yanıt basillerin çoğalmasını baskılayarak latent fazın oluşmasını sağlarken nadiren de olsa basilleri ortadan kaldırabilir [51]. Konakta immün yanıt basilin yabancı olarak algılanması ile başlamaktadır. Ardından önce doğal immün yanıt oluşmakta ve daha sonra kazanılmış immün cevap ve gecikmiş tip aşırı duyarlılık yanıtı devreye girmektedir [52].

- **Doğal bağışıklık yanıtı**

*M. tuberculosis*, çoğunlukla havada asılı olan ve basil içeren damlacık çekirdeklerinin inhalasyonu ile alınır ve ilk olarak makrofaj, nötrofil, dentritik hücre ve monosit gibi fagositik hücrelere yerleşir. Enfeksiyonun erken aşamalarında fagositik hücrelerin enfeksiyon alanına toplanması başka enfeksiyöz hastalıklarda patojeni baskılar ve hatta yok ederken TB basiline bu durum farklı sonuçlanır. Daha çok fagositik hücre, basil için daha çok enfekte edebileceği ve daha hızlı çoğalabileceği hücreler anlamına gelir [51]. TB'de doğal bağışıklık süreci oldukça dinamik bir süreç olmakla beraber patojenin dominant olduğu bir dönemdir. Bu dönemde antibakteriyel etki düşük miktardadır. Genişleyen bakteri popülasyonu hücreden hücreye yayılır ve daha sonra adaptif immün yanıtları başlatabilen dendritik hücre (DH)'leri içerecek şekilde enfekte ettiği hücre alt kümeleri aralığını arttırır [53].

- TB'de Doğal bağışıklık mekanizması

Bu evre *M. tuberculosis* komponentlerinin (mikobakteri hücre duvar komponentleri, mikobakteriyel kökenli nükleik asitler) çoklu patern tanıma reseptörleri (PRR) ile tanınmasıyla karakterizedir. Toll benzeri reseptör (TLR) 2 ve 4, C-tipi lektin reseptör (CLR) ailesi, nükleotid bağlayan oligomerizasyon domeni 2 (NOD2) gibi reseptörler bunlara dahildir. Mikobakteriyel antijenlerle uyarılan PRR'ler proinflamatuvar sitokin ve seçili kemokinlerin üretimini indükleyerek lokal ve sistemik immün hücre aktivasyonunu sağlar. Ayrıca bu sitokin ve kemokinler konağın savunmasının doğal bağışıklıktan hücresel bağışıklığa ilerlemesinde ve DH'lerin olgunlaşmasında etkilidir. Böylece hücresel bağışıklığın temelini oluştururlar [53].

- **İmmünolojik denge-Hücreseİ İmmünite**

*M. tuberculosis*'e karşı kazanılmış immün yanıtlar oldukça geç ortaya çıkar. TDT'den elde edilen mevcut verilere dayanarak, ölçülebilir adaptif immün yanıtlar, *M. tuberculosis*'e maruziyet ve enfeksiyondan yaklaşık 42 gün sonra insanlarda ortaya çıkmaktadır. Bağışıklığı güçlü olan bireylerde adaptif immün yanıtların başlamasıyla beraber, bakteriyel popülasyonun büyümesi sınırlandırılır, hastada ateş ve deri döküntüsü gibi geçici hastalık semptomları görülebilir. Bu aşamadan sonra çoğu insan asemptomatik hale gelir, bulaştırıcı değildir ve latent enfeksiyon olduğu düşünülür. Bağışıklığı baskılanmış ya da nispeten daha zayıf bireylerde özellikle CD4<sup>+</sup> ve CD8<sup>+</sup> T lenfositlerin (çoğunlukla CD4<sup>+</sup>) etkin olduğu bir adaptif immün yanıt gelişir [51]. TB'de hücreseİ immün yanıt, *M. tuberculosis* antijenlerinin T lenfositlere sunumuyla başlar. Makrofajlar TB'de sadece *M. tuberculosis*'in hücre içi büyümesi için bir rezervuar olarak değil aynı zamanda önemli mikobakteriyel antijen sunan hücreler olarak da önemli rol oynar [54]. Alveolar makrofajlar basili fagosite ettikten sonra tümör nekroz faktör alfa (TNF- $\alpha$ ) salınımı ile otokrin bir uyarı başlatırlar. Böylece makrofajlardan IL-1 ve IL-12 sitokinleri sentezlenir ve dolaşımdaki lenfositler uyarılarak enfeksiyon odağına göçleri sağlanır. Makrofajlar ve DH'ler majör doku uygunluk kompleksi (Major Histocompatibility Complex-MHC) I/II ve CD1 moleküllerini kullanarak enfeksiyon bölgesine gelen T lenfositlere mikobakteriyel antijenleri tanıtır. Makrofaj içine alınan basil antijenleri MHC sınıf II ile sunulursa CD4<sup>+</sup> T lenfositler, MHC sınıf I ile sunulursa CD8<sup>+</sup> T lenfositler uyarılır ve IL-2 ile kolonal olarak çoğalmaya başlarlar. CD4<sup>+</sup> T lenfositler ürettikleri sitokinlere göre T helper1 (Th1) (IFN- $\gamma$ , IL-2, TNF- $\alpha$ ) ve T helper2 (Th2) (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10) olarak 2 alt gruba ayrılır [55]. Antijen sunumu hem enfeksiyon odağında hem de bölgesel lenf nodunda yapılabilir, lenflerde yapılan antijen sunumu sonucu aktive olan T lenfositler enfeksiyon bölgesine göç eder [56]. CD4<sup>+</sup> T lenfositlerin CD4<sup>+</sup> Th1 alt grubu TB'nin hücreseİ immünitesinde rol oynar. CD4<sup>+</sup> Th1, IFN- $\gamma$  salgılayarak makrofajı aktif hale getirir. Aktive makrofaj ve lenfositlerden salgılanan sitokinler hücreseİ immün yanıtın etkinleşmesini sağlar. Bu aşamada TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, IL-12'nin etkisiyle granülom formasyonu gelişir ve tüberkül denilen spesifik bir lezyon görülmeye başlar. Eğer basiller yok edilemez ya da çoğalması baskılanamaz ise primer odakta çoğalır ve bölgesel lenf nodlarına giderek burda lenfadenite sebep olur. Lezyon akciğer parankimine ulaşır ve oluşan lenfadenit ve primer odak ikilisine "Ghon kompleksi" ya da "Primer Kompleks" denir [57]. Aktifleşen lenfositler çeşitli lenkofinler salgırlarlar. Sonuç olarak konak organizma için hem faydalı hem de zararlı olabilecek reaksiyonlar ortaya çıkar ve enfeksiyon bölgesinde doku hasarına yol açabilen bir inflamasyon oluşur [42].

Eğer basil antijenleri MHC-II molekülleri aracılığıyla CD4<sup>+</sup> Th2 lenfositlere sunulur ise ortama IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 ve TGF- $\beta$  gibi anti-inflamatuvar sitokinler salınmaktadır. IL-4 ve IL-



10 makrofajların, TGF- $\beta$  ise Th1 lenfositlerin aktivasyonunu ve çoğalmasını engelleyerek hücrel immüneyi baskılamaktadır. Th1/Th2 arasındaki denge enfeksiyonun seyrinde kritik öneme sahiptir [55]. Akciğerde, konakçının hücrel immün yanıtının yetersiz olması ve doku onarımı yapmaması akciğerin ilerleyen yıkımına yol açar. TNF- $\alpha$ , reaktif oksijen ve nitrojen ara maddeleri ve *M. tuberculosis*'i yok etmek için işlev gören sitotoksik hücrelerin içeriği (granzimler, granülisin, perforin), aynı zamanda konak hücrede hücre hasarına ve kaskat nekrozunun gelişmesine de sebep olabilir [58].

## 2.5. Sitokinler

Sitokinler, büyüme ve gelişme, doğal ve kazanılmış bağışıklıkta dahil olmak üzere birçok fizyolojik sürecin önemli çözümleri mediatörleridir. Sitokinler; makrofajlar, T lenfositleri, B lenfositleri ve mast hücreleri gibi bağışıklık hücrelerinin yanı sıra, fibroblastlar, endotel hücreleri ve çeşitli stromal hücreler gibi çok değişik hücre grupları tarafından üretilmektedirler [59-61]. Sitokin sinyalindeki bozulma ya da artış inflamasyon, otoimmün hastalıklar, alerji ve kanser gibi çok çeşitli bozukluklara yol açabilmektedir [62].

- Sitokinler temelde hücre içinde 2 yol izler;
  1. MAP (Mikrotübül ilişkili protein) kinaz yolağı ile hücre onarımını veya Nükleer faktör kappa B (NF- $\kappa$ B) yolağını uyararak, gen ekspresyonu üzerinden hücre ölümüne yol açarken,
  2. JAK/STAT yolağını kullanarak gen ekspresyonu üzerinden hücre proliferasyonuna veya ölümüne yol açabilmektedirler [63].

TB, inflamasyonla karakterize kronik enfeksiyöz bir hastalıktır [64]. TB'ye karşı immün yanıt, antijen sunan hücreler, lenfositler, monositler, makrofajlar, immün medyatörler ve sitokinler arasındaki karmaşık ilişki ile düzenlenmektedir. TB ile enfeksiyondan 3 hafta sonra koruyucu immüneye önemli rolü olan Th1 tipi sitokinler makrofajları aktive ederek granülom oluşumuna izin vermektedir. Basilin vücuda girişiyle beraber hem alveolar Tip II pnömositler hem de endotel hücreler, *M. tuberculosis*'i doğrudan öldürebilen veya enfekte makrofajların anti-mikrobik fonksiyonlarını artırabilen sitokinler, kemokinler ve diğer molekülleri üreterek erken konak immün savunmasına katılmaktadır [65].

İmmün hücrelerden pro-inflamatuar sitokin ve kemokin üretimi olabilmesi için mikobakterilerin bu hücreler tarafından tanınması gereklidir. Çoklu patern tanıma reseptörleri (multiple pattern recognition receptors-PPR) mikobakteri hücre duvar komponentleri,

mikobakteriyel kökenli nükleik asitler gibi mikobakteriyel antijenlere karşı duyarlıdır ve sitokin profilinin oluşturulmasında başlatıcı role sahiptir [51]. TB'de özellikle akciğerlerde inflamasyona sebep olan bu sitokinler birbirine karşı antagonistik etkili olabildikleri için pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar sitokinler şeklinde gruplandırılmaktadır.

- Proinflamatuvar Sitokinler;

TB basilinin tanınmasında, makrofaj aktivasyonunun stimüle edilmesinde, basilin hücre içine alınmasında ve sindirilmesinde, yeni sitokinlerin sentezinde etkin olan sitokinlerdir [23].

**IFN- $\gamma$** ; Th1 tipi sitokin olan IFN- $\gamma$  makrofaj aktivasyonunu sağlayan en önemli sitokinlerden biridir [66]. IFN- $\gamma$ , IL-12 ve IL-18'in uyarımı ile doğal öldürücü (natural killer-NK) hücreler ve T lenfositler (CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>) tarafından salgılanır. Antijene özgü T hücre immünesinde önemli yeri vardır [67]. *In vitro* olarak mikobakteriyel antijen spesifik IFN- $\gamma$  üretimi *M. tuberculosis* ile enfeksiyonda belirteç olabilecek konumdadır [44]. TNF- $\alpha$  ile beraber makrofaj aktivasyonunda etkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Her ikisi birlikte sinerjistik etki göstermektedir [68]. IFN- $\gamma$ , makrofajlardaki 200'den fazla genin transkripsiyonunu indükler. Buna MHC sınıf II ifadesinin uyarılması, oksijen radikalleri ve nitrik oksit gibi antimikrobiyal efektörlerin üretimi de dahildir [18, 66].

**TNF- $\alpha$** ; İnflamatuar yanıtın başlatılmasında, düzenlenmesinde ve devam ettirilmesinde rolü olan güçlü bir proinflamatuvar ve immünregülatör sitokin olmasının yanı sıra, mikobakteriyel enfeksiyonlarda da apoptosisi indüklemesiyle önem taşır [66]. Mikobakteriyel antijenlerle uyarılmış olan dentritik hücreler, monosit ve makrofajlarca üretilen TNF- $\alpha$ 'nın granülom oluşumunda kilit rolü olduğu bilinmektedir. TNF- $\alpha$ 'nın sistemik yayılımı ise ateş gibi istenmeyen inflamatuvar etkilere sebebiyet verebilir [44]. IFN- $\gamma$  ile ilişkili olarak antimikrobiyal etkili olan reaktif nitrojen ara ürünlerinin üretiminden sorumludur. Konakta immün yanıtın başladığı dönemde makrofajlardan salınarak makrofajın otokrin aktivasyonunu sağlar. Bu uyarımla beraber makrofajlardan IL-1, IL-12 üretilir ve enfeksiyon bölgesine T lenfosit göçü sağlanmış olur [43].

**IL-6**; Hem pro- hem de anti-inflamatuar özellikteki bu sitokin, mikobakteriyel enfeksiyonların erken döneminde enfeksiyon bölgesinde üretilir. TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  üretimini inhibe ettiği ve *Mycobacterium avium*'un *in vitro* üremesini teşvik ettiği için mikobakteriyel enfeksiyonlarda zararlı olabileceği düşünülmektedir [44].

**IL-12;** B lenfositler, DH'ler ve makrofajlar tarafından üretilen, heterodimerik proinflamatuvar sitokin olan IL-12, Th1 yanıtını indükleyen başlıca sitokindir. Ayrıca patojenle uzun dönem korunmada etkili olan efektör/hafıza Th1 hücrelerinin devamlılığında sağlamaktadır [66]. IL-12'nin azaltılmış üretimi, Th1 yanıtını bozar ve hücre içi patojenlerle enfeksiyona duyarlılığı artırır [69]. SOCS-1 <sup>-/-</sup> farelerde yapılan çalışmalarda, kontrol edilemeyen IL-12 yanıtına karşın aşırı IFN- $\gamma$  üretimi sonucu inflamatuvar hastalık gelişimi gözlemlenmiştir [62].

**IL-18;** IFN- $\gamma$ 'nın enfeksiyon sırasında indüklenmesinde etkili olan bu sitokin IL-12 ile beraber sinerjistik etki sağlar ve T lenfositlerden IL-18 salınımını artırır [69]. IL-18'in diğer pro-inflamatuvar sitokinler, kemokinler ve transkripsiyon faktörleri üretimini uyardığı da bilinmektedir. IL-18 geni eksik farelerde BCG ve *M. tuberculosis*'e duyarlılığın arttığına işaret eden çalışmalar mevcuttur [70].

**IL-8;** Kemotaktik sitokindir, enfeksiyon bölgesine nötrofil göçünü uyarmaktadır. IL-1, IL-6 ve TNF- $\alpha$  ile beraber nötrofil aktivasyonunu sağlarken aynı zamanda CD4<sup>+</sup> T lenfositlerin rol aldığı gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonunu da başlatmaktadır [71].

- Anti-inflamatuvar Sitokinler;

**IL-10;** TB basilinin fagositozundan sonra nötrofil, makrofaj ve DH'ler ve T lenfositler tarafından üretilen anti-inflamatuvar bir sitokindir. Pro-inflamatuvar sitokinler olan IFN- $\gamma$ , IL-12 ve TNF- $\alpha$  üretimine karşı antagonistik etkilidir [18, 66].

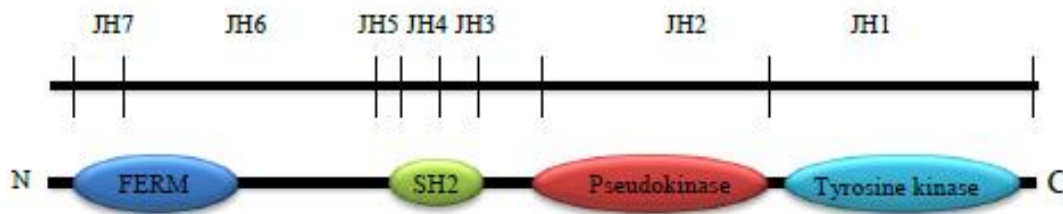
**IL-4;** Th1 tipi hücre proliferasyonunu baskılayan dolayısıyla IFN- $\gamma$  üretimini azaltan yönde etki gösteren anti-inflamatuvar bir sitokindir, yanı sıra Th2 hücrelerini de uyarmaktadır. TB hastaları için zararlı etkisi vardır [18, 66, 69].

**TGF- $\beta$ ;** Mikobakteriyel ürünlerin uyarımı sonucu monosit ve makrofajlar tarafından üretilen Th2 tipi bu sitokin; T hücrelerinde IFN- $\gamma$  üretimini ve çoğalmasını inhibe ederek Th1 tipi lenfositlerin aktivasyonunu inhibe eder ve basile karşı savaşta hücre sel immünitenin baskılanmasına neden olur. Makrofajlarda, antijen sunumunu, pro-inflamatuvar sitokin üretimini ve hücre aktivasyonunu baskılamaktadır [44].

## 2.6. Janus Kinaz/Sinyal İletici ve Transkripsiyon Aktivatörleri Yolağı

Janus Kinaz/Sinyal İletici ve Transkripsiyon Aktivatörleri (JAK/STAT) yolağı hayvanlarda gelişim ve homeostaz için çok sayıda sinyalin iletiminde kullanılan pleiotropik kaskadlardan biridir. Bu hücrel olaylar hematopoez, bağışıklık gelişimi, meme bezi gelişimi ve laktasyon, adipogenez, cinsel dimorfik büyüme ve diğer süreçler için kritik öneme sahiptir. Tahminen, JAK/STAT yolağının aktivitesini azaltan mutasyonlar bu süreçleri etkilemektedir [72, 73]. Janus Kinaz ailesi, sitokin aracılı sinyal iletiminde görev alıp hücre içi reseptörü olmayan bir grup tirozin kinazdır [74].

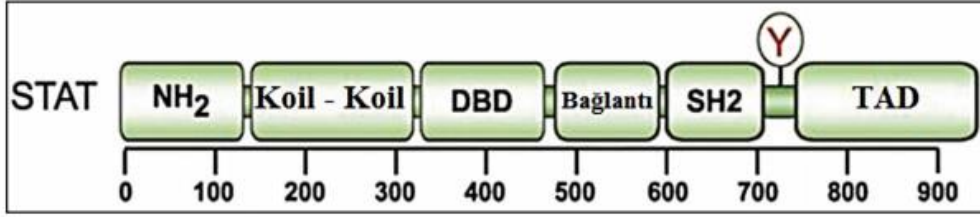
JAK aktivasyonu, hücre çoğalmasını, farklılaşmasını, hücre göçünü ve apoptozu uyarır. Memelilerde JAK ailesi JAK1, JAK2, JAK3 ve Tyk2 olmak üzere dört üyeden oluşmaktadır. Bunlar, reseptörlerin hücre içi alt birimlerine bağlanarak onları fosforilleyen ve adaptör proteinler için, bağlanma bölgeleri oluşturan non-reseptör kinazlardır [75]. JAK ailesi üyelerinin yapısal kısmını meydana getiren 7 farklı JAK homoloji bölgesi bulunmaktadır [72]. Bu bölgeler; FERM (J5-J7 ve J4'ün bir kısmı), SH2 (JH3 ve JH4'ün bir kısmı), psödokinaz (JH2) ve katalitik olarak aktif tirozin kinaz (JH1) domeinlerini oluşturur (Şekil 2.1.) [76].



Şekil 2.1. JAK geninin yapısı [76].

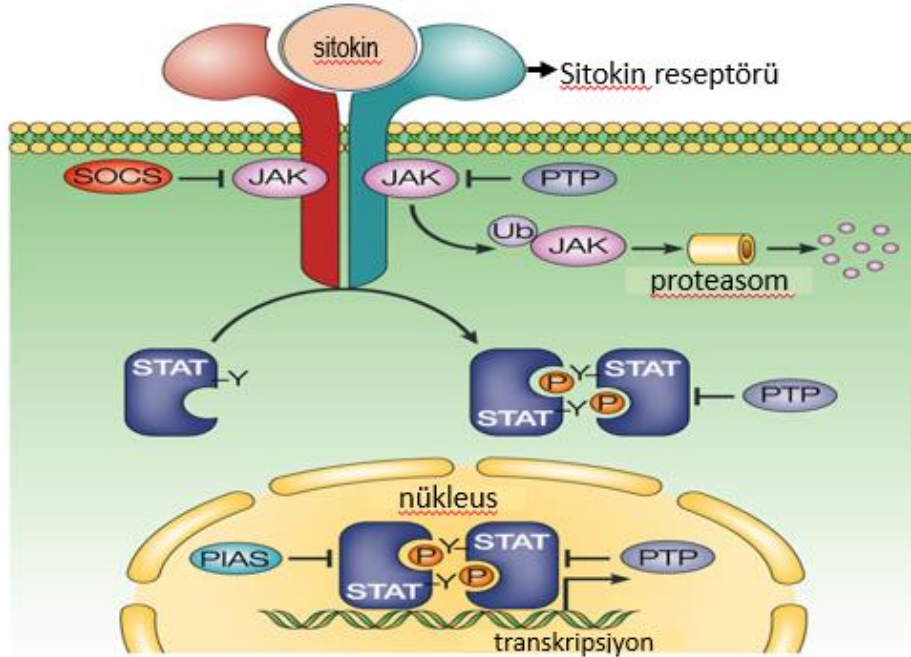
C-terminal ucu oluşturan JH1 bir tirozin kinaz alanıdır; diğer protein tirozin kinazlara benzer bir yapıya sahiptir ve bir ATP bağlayıcı bölge ve bir katalitik bölge içerir. JH2 fonksiyonel bir tirozin kinaz olmamasına rağmen, normal kinaz aktivitesinin düzenleyicisidir. Ferm domeni ise JAK'ların tirozin kinaz aktivitesini etkiler ve pozitif düzenler [76].

Memelilerde yedi farklı STAT tanımlanmıştır ve STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b ve STAT6 olarak adlandırılmıştır. STAT molekülleri, yüksek ölçüde korunmuş etki alanlarına ve karakteristik yapıya sahip; N-terminal alanı, bobinli alan, DNA-bağlama bölgesi (DBD), bağlayıcı alan, Tirozin aktivasyon bölgesi, SH2 alanı ve transkripsiyon aktivasyon alanı (TAD) olmak üzere 7 fonksiyonel bölgeden oluşur (Şekil 2.2.) [77].



Şekil 2.2. STAT molekülünün yapısal organizasyonu [77].

İntraselüler bölgelerdeki STAT'lar, aktivasyon üzerine çekirdeğe transloke edilen latent sitoplazmik transkripsiyon faktörleridir. Herhangi bir büyüme faktörü ile uyarılmamış STAT'lar, hücrelerde inaktif durumdadır [76]. JAK/STAT Sinyal Yolağında; hücre dışından gelen sinyal molekülünün reseptörüne bağlanmasıyla beraber reseptör dimerize ya da oligomerize olur. JAK'lar, SH2 domeni aracılığıyla reseptöre bağlanır ve transfosforile olurlar. Aktive olan JAK'lar reseptör sitoplazmik domenindeki tirozin kalıntılarını fosforiller ve STAT proteinleri için kenetlenme alanı sağlarlar [78]. Aktive edilmiş JAK'lar, sırasıyla birbirlerini, reseptör alt-birimlerinin hücre içi bölümlerini ve bunların substratları olan STAT'lar üzerindeki tirozin kalıntılarını fosforile ederler [79]. Fosforillenen STAT'lar, JAK'dan ayrılarak dimerize olurlar ve çekirdeğe transloke olurlar. Daha sonra hedef genin promotör bölgesine bağlanarak gen ekspresyonunda değişikliklere neden olmaktadır (Şekil 2.3.) [63, 76].



Şekil 2.3. JAK/STAT sinyal iletiminin genel şeması [80].

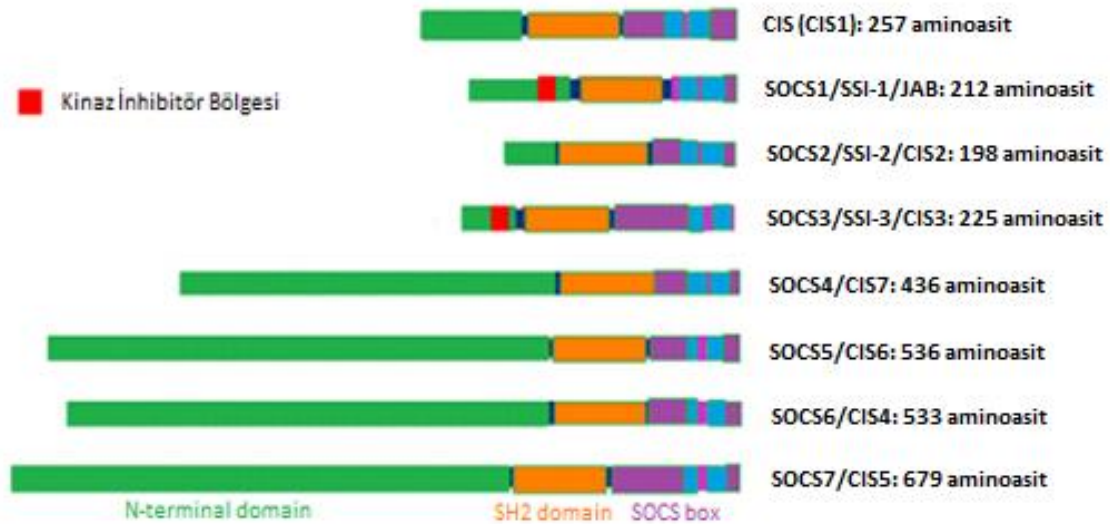
Sitokin sinyali JAK/STAT yolağı tarafından birkaç mekanizma ile sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir;

- Tirozin fosfatazlar (PTPs); reseptörü ve/veya aktive JAK'ları ve STAT'ları defosforile ederek sinyallemei inhibe ederler,
- Aktive edilmiş STAT'ların protein inhibitörleri (PIAS); bazı durumlarda dimerize STAT'lara bağlanır ve STAT'ların DNA'ya bağlanmasını engellerler,

Sitokin sinyal baskılayıcı ailesi (SOCS); JAK/STAT aktivasyonunun bir sonucu olarak ifade edilir ve sinyallemei engellemek için JAK'lara ve/veya IFN reseptörlerine bağlanır [60, 73, 76, 81].

## 2.7. Sitokin Sinyal Baskılayıcı Ailesi (SOCS)

Sitokin sinyalini negatif geri bildirim yoluyla inhibe eden polipeptit yapıdaki sitokin sinyal süpresörleri (SOCS), sitokinle indüklenen SH2 domeni içeren (CIS) protein ve SOCS 1-7 olmak üzere toplam sekiz üyesi (SOCS 1-7, CIS) bulunan hücre içi protein ailesidir [82-84]. SOCS ailesi üyelerinin her biri bir merkezi SH2 alanı, değişken uzunluk ve sekansta bir amino terminal bölgesi ve SOCS kutusu (SOCS box) olarak bilinen karboksi terminalde 40 amino asitlik bir modül taşır [10, 11]. SOCS protein ailesinin domein yapısı ve sınıflandırılması Şekil.2.4.'de gösterilmektedir [85].

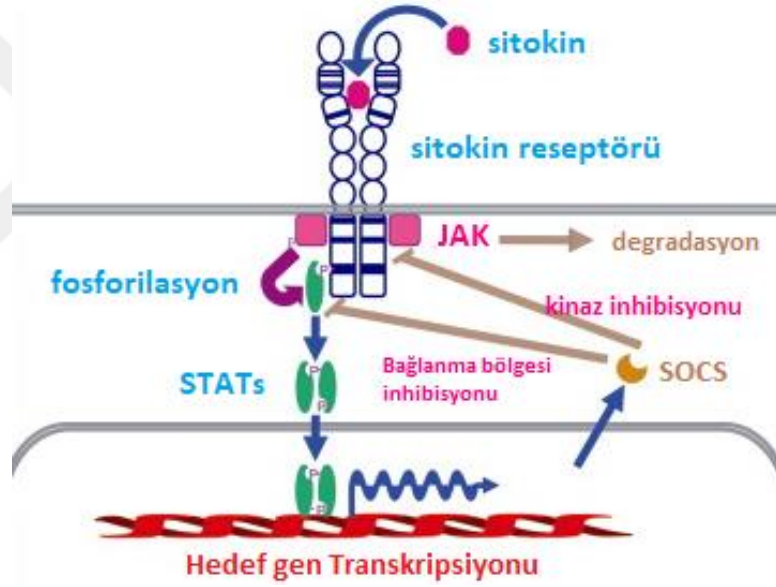


Şekil.2.4. SOCS protein ailesinin domein yapısı ve sınıflandırılması [85].

CIS-SOCS ailesi proteinleri iki yol ile regülasyon sağlamaktadır. İlk yaklaşıma göre, tüm SOCS proteinleri hedeflerini ubiquitin yolağı bağımlı olarak inhibe ederler. İkinci yaklaşıma göre, hem SOCS-1 hem de SOCS-3, bir psödosubstrat olarak hareket ederek ve substratlarla SH2 domeni ve N terminalde bulunan kinaz inhibitör bölgesi (KIR) aracılığıyla rekabet ederek JAK tirozin kinazın katalitik aktivitesini inhibe edebilir [86].

- SOCS Proteinlerinin Etki Mekanizması

Hücre yüzeyi reseptörü alt birimlerinin sitokin tarafından uyarılması, reseptörle ilişkili JAK proteinlerinin ve reseptörün sitoplazmik alanındaki sitoplazmik STAT1 ve STAT2 proteinlerinin biraraya gelmesine ve fosforilasyonuna neden olur. Aktifleşen STAT1-STAT2 heterodimer yapısı nukleusa taşınırlar, hedef bölgeye bağlanır ve gen ekspresyonuna neden olurlar [83].



**Şekil.2.5.** SOCS Proteinlerinin Etki Mekanizması [87].

SOCS proteinlerinin;

- Reseptörün sitoplazmik kuyruğundaki STAT fosforilasyonunu,
- STAT dimerizasyonunu ve
- Dimerleşmiş STAT proteinlerinin gen ekspresyonu üzerindeki indüktif etkisini inhibe ettiği bulunmuştur [83].

### 2.7.1 SOCS-1 Proteini ve İnflamatuvar Etkisi

SOCS-1 geni 16. kromozom üzerinde bulunmaktadır, 2 eksondan oluşan ve 1225 baz çifti içeren bu gen 212 amino asitten oluşan protein kodlamaktadır [88]. SH2 domeni sayesinde JAK'lar ile direkt etkileşir ve JAK'ın tirozin kinaz aktivitesini baskılayabilir [89]. SOCS ailesinin üzerinde en çok çalışılan ve en iyi tanımlanan üyelerinden biri olan SOCS-1, sitokinlerin neredeyse tamamını JAK/STAT yolağı aracılığı ile inhibe ettiği bildirilmiştir [75]. STAT'ın sitokin sinyal ifadesini sağlamak için DNA'ya bağlanması, SOCS-1 ekspresyonunu ve SOCS-1 üretimini indükler, bu da sitokin-JAK-STAT yolunu düzenlemek için negatif geri bildirim sağlar. Bu arada, SOCS-1 NF-κB yolağı tarafından da indüklenebilir ve sonuç olarak NF-κB ifadesini negatif geri besleme yoluyla inhibe edebilir [90].

SOCS-1, inflamatuvar hastalıklarla ilgili birçok sitokinin sinyalini negatif olarak düzenlemektedir. SOCS-1 geni ifadesindeki azalma sonucu bozulan sitokin sinyalinin negatif regülasyonu aşırı ve gereksiz inflamasyona yol açabilir [90]. IFN-γ reseptörüne doğrudan bağlanabilen SOCS-1, çok düşük düzeyde eksprese edilse dahi IFN-γ sinyalini inhibe edebildiği gösterilmiştir [89].

SOCS-1, SOCS-1<sup>-/-</sup> farelerde doğumdan 3 hafta sonra şiddetli lenfopeni, karaciğer nekrozu, organlarda mononükleer infiltrasyon sonucu ölüme yol açtığı yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir. SOCS-1 defektli bu farelerdeki anormallikler sonucu ölüm, T ve NK hücreleri tarafından IFN-γ üretiminin aşırı artması ve myeloid hücrelerde kontrolsüz IFN-γ sinyali görülmesi ile ilişkilendirilmiştir ve T hücre aktivasyonu ve farklılaşmasının SOCS-1 tarafından düzenlenebileceği görüşü ortaya çıkmıştır [75].

Benzer şekilde SOCS-1<sup>-/-</sup> farelerle yapılan bir araştırmada SOCS-1'in IFN-γ, IL-2, IL-4, IL-6 ve IL-12 fonksiyonlarının önemli bir negatif düzenleyicisi olduğu tespit edilmiş ve bu farelerde anormal bir CD4/CD8 oranı görülmüştür. Bu veriler ışığında SOCS-1'in T hücre gelişiminde etkin olabileceği görüşü desteklenmiştir [75].

İnflamasyonun yoğun olduğu romatoit artrit hastalarıyla yapılan bir çalışmada, CD4<sup>+</sup> T lenfositlerince eksprese edilen SOCS-1 düzeyinin sağlıklı kontrollere göre daha yüksek olduğu, SOCS-3 miktarının ise daha düşük olduğu verileri elde edilmiştir [91].

TB enfeksiyonunun erken dönemlerinde, henüz NK ve T hücreleri tarafından IFN-γ salınmıyorken M. tuberculosis, makrofajları SOCS-1 üretimi için uyarmaktadır. Böylece basil ile savaşta en etkili sitokinlerden biri olan IFN-γ ekspresyonunun önlenmesi, basil yükünün artmasıyla sonuçlanır [73].

SOCS-1 birçok inflamatuvar hastalıkta önemli rol oynamasının yanı sıra, inflamasyonla ilişkili tümör oluşumunu düzenleyen eşsiz (unique) bir tümör baskılayıcı genidir. Klasik Hodgkin



lenfomada (cHL) ve primer mediastinal ve difüz büyük B hücreli lenfomalarda SOCS-1 gen fonksiyon kaybı mutasyonları sıklıkla gözlenmiştir. SOCS-1'in, p53 tümör baskılayıcısının aktivasyonunu doğrudan bir etkileşim ile teşvik ettiği ve p21 ekspresyonunu ve stabilitesini düzenlediği gösterilmiştir [75].

Son zamanlarda genom çapında yapılan çalışmalar SOCS-1 tek nükleotid polimorfizmlerinin, primer biliyer siroz, multipl skleroz, lepra, Crohn hastalığı, çölyak hastalığı ve serum IgE seviyeleri gibi çeşitli hastalıklarda varlığını ortaya koymuştur. Bu veriler, SOCS-1'in bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde ve insan immünolojik bozukluklarında güçlü bir rol oynadığını göstermektedir [75]. SOCS box'ı kodlayan SOCS-1 ekson2'deki 1335 G/C SNP'sinin JAK2 degradasyonunu bozabileceği ve devam eden JAK2 aktivasyonunu indükleyebileceği tespit edilmiştir [92].

Daha önce TB hastalarıyla yapılan çalışmalarda SOCS protein ekspresyonunun hastalığın şiddetiyle ilişkilendirildiği görülmüş fakat yapılan literatür araştırmasında SOCS-1 gen polimorfizmi ve TB ilişkisi ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

Bu tez çalışması ile TB tanısı almış kişiler ve sağlıklı kontrol grubunda, SOCS-1 geni promotör bölgesinde bulunan -1478 CA/del ve ekson2'de bulunan 1335 G/C SNP'nin genotipik dağılımları tespit edilmiş, ardından istatistiksel analizler yapılmış ve bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup olmadığı araştırılmıştır.

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Çalışma Grubunu Oluşturan Örnekler

Bu tez çalışması, Mersin Üniversitesi Rektörlüğü Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'nın 05/10/2017 tarih ve 2017/288 sayılı kararı ile "Etik Kurul Onayı" nı almıştır.

Çalışmaya, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Göğüs Hastalıkları Polikliniği'nde TB şüpheli bulunan ve Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Mikobakteriyoloji Laboratuvarı'nda klinik örneğinde MTBC izole edilen hastalar ve Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Etik Kurul Başkanlığı'nın 17.04.2009 tarih ve 2009/56-04 sayılı kararı ile "Etik Kurul Onayı" nı almış olan "Tüberküloz Hastalarında Sitokin Gen Polimorfizmi ve Genetik yatkınlık" isimli tez çalışmasına ait hasta DNA'ları dahil edilmiştir. Toplamda MTBC tanımlı 90 hasta örneği çalışmaya dahil edilmiştir.

Klinik örnekler (Balgam, İndüklenmiş balgam, AMS, Bronkoskopi örneği, Larinks sürüntüsü) homojenizasyon dekontaminasyon işlemi uygulandıktan sonra katı ve sıvı besiyerlerine ekim yapıldı, LJ besiyerleri 37°C'de etüvde 6-8 haftaya kadar bekletildi. Üremesi olan izolatların saflık kontrolü Erlich-Ziehl-Neelsen (EZN) boyama yöntemi ile yapıldı [93].

Sonuçlar saf çıktığında MTBC ve Tüberküloz Dışı Mikobakteri (TDM) ayrımı için paranitro benzoik asit (p-NBA) içeren besiyerine ekim yapıldı (MTBC bu besiyerinde üreme özelliğine sahip değildir) ve kart test (TB Ag MPT64 Hızlı Testi, Standard Diagnostics, Kore) kullanıldı. Kart test ve p-NBA sonucunda klinik örneğinde MTBC izole edilen hastalar çalışmaya dahil edildi.

Sağlıklı kontrol grubu örnekleri, Mersin Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Kan Merkezi'ne donör olarak başvuran, donör sorgulama formuna göre parenteral taşınan hastalıklar bakımından hiçbir risk faktörüne sahip olmayan ve donör tarama testleri negatif olan hastalardan ve "Tüberküloz Hastalarında Sitokin Gen Polimorfizmi Ve Genetik yatkınlık" isimli tez çalışmasına ait sağlıklı kontrol grubu DNA örneklerinden oluşturuldu. Toplam 90 örnek çalışmaya dahil edildi. Sağlıklı kontrol grubu seçilirken cinsiyet ve yaş ortalamalarının hasta grubu ile uyumlu olmasına dikkat edildi. Tüm hastalara ve sağlıklı kontrol grubu gönüllülerine çalışma hakkında bilgi verildi ve onam formunu doldurmaları sağlandı. Çalışmaya dahil edilen hasta ve sağlıklı kontrol grubuna ait kişilerden 3-4 ml periferik kan örneği, içerisinde antikoagülan (EDTA) bulunan tüplere alındı.

## 3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

### 3.2.1. Kullanılan Cihazlar

- PZR cihazı (Thermal Cyclers, Eppendorf Mastercycler)
- Güvenlik Kabini (Heraeus-HERA safe)
- Elektroforez Güç Kaynağı (Biometra P30)
- Elektroforez Tankı (Agagel Mini Biometra)
- Jel Görüntüleme Sistemi (Vilber Lourmat Marne La Vallée, France)
- Soğutmalı Mikrosantrifüj (Hettich-Universal 32 R)
- Mikrodalga Fırın (Beko-MD 1500)
- Derin Dondurucu (Uğur)
- Etüv (Memmert)
- Otoklav (Nüve-OT 020)
- Hassas Terazı (Scaltec)
- Buzdolabı (Indesit)
- Vortex (NM-110)
- Su Banyosu (Memmert)
- Distile su cihazı (Nüve NS 108)
- Mikropipet Seti (Brand- 0,2-2 mikrolitre, 2-20 mikrolitre, 20-200 mikrolitre)
- Isı bloğu (Techne DB-2D)

### 3.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Trisma base (Sigma T1503, Lot-SLBL6398V)
- Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA), disodium salt dihydrate (Sigma E5134 Lot-BCBV7014)
- Borik asit (Sigma B6768 Lot-BCBS7652)
- Brom fenol mavisi (SCP Science B7722)
- Sükroz (Merck 1.07651)
- Etanol absolut (Riedel- deHaän/ 32221 Germany)
- Agaroz (Sigma- A-9539 lot 013K0008)
- DMSO ( Merck-Millipore)
- Taq DNA Polimeraz (Thermo Scientific)
- 10X PCR Buffer (KCl/NH<sub>4</sub>) (Thermo Scientific)

- 25 mM MgCl<sub>2</sub> (Thermo Scientific)
- 10 mM dNTP Mix (Thermo Scientific)
- 100 bç'lik Markır (100 bp DNA Step Ladder) (Thermo Scientific)
- Lowenstein Jensen besiyeri (Merck 01256-03 Germany)
- Bazik fuksin (Sigma C-4165 USA)
- %95'lik etil alkol (Sigma E-285 USA)
- Metilen mavisi (Sigma 6900 USA)
- Hidroklorik asit (Sigma 920-01 USA)
- Etidyum-Bromid (Sigma E8751-1G USA)
- Distile Su
- DNase, RNase içermeyen su (Thermo Scientific)
- Primerler
  - SOCS-1 Geni, Promotör bölgesi -1478 CA/del polimorfizmi  
F: 5'TGTCGTCCAGCTGCACCTC-3'  
R: 5'-ACCACAGGCTTCAGAGGAAC-3'
  - SOCS-1 Geni, Ekson2, 1335 G/C polimorfizmi  
F: 5'-GCTGCTGGAGCACTACGT G-3'  
R: 5'-CCAGATACAGTTAAGCTGCTAC-3'
- Restrüksiyon Endonükleaz Enzimleri
  - HpyF3I (DdeI) (Thermo Scientific ER1881)  
5'...C↓TNAG...3'  
3'...GANT↑C...5'
  - Hpy188III (Biolaps R06622S)  
5'...TC↓NNGA...3'  
3'...AGNN↑CT...5'

### 3.2.3. Kullanılan Boyalar

- Karbolfuksin Hazırlanması  
0.3 gr bazik fuksin 10 ml %95'lik etil alkolde çözüldü. 5 gr fenol kristalleri 100 ml distile suda çözüldü. Hazırlanan bu solüsyonlar 1/1 oranında karıştırıldı.
- Metilen Mavisi Hazırlanması  
0.3 gr metilen mavisi 100 ml distile suda çözüldü.
- %3'lük Asit Alkol Hazırlanması  
3 ml hidroklorik asit üzerine 97 ml %95'lik etil alkol ilave edildi

### 3.2.4. Kullanılan Besiyeri

- LJ Besiyeri
- Versa-TREK sıvı besiyeri

## 3.3. Yöntemler

### 3.3.1. Kart test (TB Ag MPT64 Hızlı Tanı Testi)

İmmünokromatografik bir yöntem olan ve MTBC grubunda bulunan MPT64 antijenini tanımaya yönelik olarak kullanılan SD Bioline Ag MPT64 Rapid™ ticari kiti (Standard Diagnostics, Kore), katı (LJ) veya sıvı (Versa-TREK) besiyerlerinde üreyen mikobakterilerin MTBC-TDM ayrımı yapılmasında kullanıldı. Test için, üremesi olmuş ve saf olarak sonuçlanmış olan sıvı besiyerinden alınan 100 µl örnek doğrudan kullanılırken; LJ besiyerinden alınan 3-4 adet koloni 300 µl nükleaz free su içerisinde süspansiyon edildi, bu süspansiyondan 100 µl'lik örnek kullanıldı. Test sonuçları 15 dakika sonra değerlendirildi. Tek başına kontrol bandı oluşması negatif, kontrol ve test bandında çizgi oluşması pozitif sonuç/MTBC olarak kabul edildi. Kontrol bandının hiç oluşmaması halinde test geçersiz kabul edilerek çalışma tekrarlandı [94].

### 3.3.2. Moleküler Analiz

#### 3.3.2.1. Genomik DNA Eldesi

Çalışmaya dahil edilen hasta ve sağlıklı kontrol grubundan EDTA'lı tüplere alınan tam kan örneklerinden genomik DNA eldesi "Purelink Genomic DNA Mini Kit" (İnvitrogen K1820-02)'i kullanılarak üretici firmanın talimatları doğrultusunda yapıldı. Toplanan kan örnekleri çalışma zamanına kadar -20°C derin dondurucuda saklandı. Çalışma zamanında oda ısısında çözündürüldü. DNA ekstraksiyon protokü aşağıdaki gibi uygulandı;

- Benmari cihazı 55°C'ye ayarlandı.
- Steril bir mikrosantrifüj tüpüne 200 µL kan örneği eklendi.
- Örneğe 20 µL Proteinaz K ve 20 µL RNase A eklendikten sonra vortekslenildi ve 2 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
- Üzerine 200 µL PureLink® Genomik Lizis/Binding Buffer eklendi ve vortekslenildi.
- Ardından 55°C'ye ayarlanan benmaride 10 dakika inkübe edildi.
- Benmariden alınan lizata 200 µL %96-100 etanol eklendi, 5 saniye vortekslenildi.

- Tüm karışımı üstünde filtrelili kısmı bulunan spin columlarına aktarıldı, 10.000 x g'de 1 dakika santrifüjlendi, tüp kısmı atık kabına atıldı filtre kısmı temiz bir toplama tüpüne yerleştirildi,
- Filtrelili tüpe 500 µL wash buffer 1 eklendi, 1 dakika 10.000 x g'de santrifüj edildi,
- Tüpün dibinde biriken sıvı atık kabına boşaltıldı ve filtre yine aynı tüpe yerleştirildi. Filtrelili tüpe 500 µL wash buffer 2 eklendi, 3 dakika maksimum hızda santrifüj edildi,
- Filtre kısmı steril bir 1.5 mL ependorf tüpüne yerleştirildi.
- Filtrenin orta kısmına gelecek şekilde 100 µL Elution Buffer eklendi, 5 dakika oda ısısında bekletildi
- Süre sonunda maksimum hızda 2 dakika santrifüj yapılarak filtrelili tüpte bulunan sıvının ependorf tüpe geçmesi sağlandı.
- Edile DNA çalışılincaya kadar -20°C'de saklandı.

### 3.3.2.2. Tek Nükleotid Polimorfizmlerinin Belirlenmesi

Hasta ve sağlıklı kontrol grubundan alınan kanlarından elde edilen DNA örneklerindeki SNP'leri tespit etmek için PZR-RFLP yöntemi kullanıldı.

#### 3.3.2.2.1. SOCS-1 Geni Promotör -1478 CA/del (rs33989964) Tek Nükleotid Polimorfizmi

Bu gen bölgesindeki SNP varlığının belirlenmesi için Gül ÖÖ ve ark. [95]'nin çalışmalarındaki protokol uygulandı. Polimorfizmden sorumlu gen bölgesi önce primer spesifik PZR tekniği (Tablo 3.1.) ile çoğaltıldı daha sonra çoğaltılan bu bölge *DdeI* enzimi ile kesilerek polimorfizm varlığı araştırıldı.

**Tablo 3.1.** SOCS-1 Geni Promotör -1478 CA/del (rs33989964) SNP PZR-RFLP yönteminde kullanılan primer dizileri [95].

Polimorfizm Bölgesi	Primer Adı	Nükleotid dizisi (5'-3')	Uzunluk (bp)
SOCS-1 Promotör	-1478-F	TGTCGTCAGCTGCACCTC	250
-1478 CA/del	-1478-R	ACCACAGGCTTCAGAGGAAC	

PZR karışımı steril, temiz kabinlerde hazırlandı. Toplam son hacim 50 µl olacak şekilde nükleaz free distile su, 10X PZR tamponu [KCl'li] (Thermo Scientific), MgCl<sub>2</sub> (Thermo Scientific), dNTP (Thermo Scientific), primerler (-1478-F ve -1478-R), Taq DNA polimeraz (Thermo Scientific) dimetilsülfoksit (DMSO-Merck Millipore) ve izole edilen DNA eklenerek hazırlandı. Her bir örnek için reaksiyon karışımı Tablo 3.2.'de belirtilmiştir.

**Tablo 3.2.** SOCS-1 Geni Promotör -1478 CA/del polimorfizmi PZR reaksiyon karışımı

<b>PZR malzemeleri</b>	<b>Miktar</b>
NFDS	28.1 µl
10X PZR tamponu	5 µl
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	4 µl
DMSO	6 µl
dNTP mix (10 mM)	1 µl
-1478-F (100 pmol/µl)	0.3 µl
-1478-R (100 pmol/µl)	0.3 µl
Taq DNA polimeraz (5U/µl)	0.3 µl
Toplam PZR karışımı hacmi	45 µl
DNA	5 µl
<b>Toplam hacim</b>	<b>50 µl</b>

Oluşturulan PZR karışımı vortekste karıştırıldıktan sonra, her bir örneğe ait steril 0.2 ml'lik PZR tüplerine 45 µl olacak şekilde paylaştırıldı. Her bir örneğe ait tüpe 5 µl DNA konulup ısı döngü cihazına yerleştirildi. SOCS-1 geni -1478 CA/del polimorfizmi için ısı döngü cihazında PZR koşulları Tablo 3.3.'teki gibi uygulanmıştır.

**Tablo 3.3.** SOCS-1 Geni Promotör -1478 CA/del polimorfizmi amplifikasyonunda kullanılan PZR koşulları

<b>Reaksiyon Aşaması</b>	<b>Sıcaklık (°C)</b>	<b>Süre</b>	<b>Döngü Sayısı</b>
İlk Denatürasyon	95	5 dakika	1
Denatürasyon	95	30 saniye	
Primer Bağlanması (Annealing)	60	30 saniye	35
Zincir Uzaması (Extension)	72	1 dakika	
Son Uzaması (Extension)	72	5 dakika	
Bekleme	4	∞	∞

Termal döngü cihazında reaksiyon tamamlandıktan sonra primer spesifik PZR tekniği ile amplifiye edilen 250 bç'lik bölge *Ddel* restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesildi. PZR-RFLP yönteminde her bir örnek için reaksiyon karışımı Tablo 3.4.'de belirtilmiştir

**Tablo 3.4.** SOCS-1 Geni Promotör -1478 CA/del polimorfizmi RFLP reaksiyon karışımı

<b>RFLP malzemeleri</b>	<b>Miktar</b>
NFDS	5.8 µl
10X Buffer <i>Ddel</i>	1.5 µl
Restriksiyon enzimi ( <i>Ddel</i> )	0.3 µl
PZR ürünü	3 µl
<b>Toplam hacim</b>	<b>10.6 µl</b>

Hazırlanan RFLP karışımı vortekste karıştırıldıktan sonra, her bir örneğe ait steril 0.2 ml'lik PZR tüplerine 7.6 µl olacak şekilde paylaştırıldı. Her bir örneğe ait PZR ürününden 3 µl'si enzim ve buffer içeren tüplere ilave edildikten sonra tüpler ısı döngü cihazına yerleştirildi. SOCS-

1 geni -1478 CA/del polimorfizmi için ısı döngü cihazında RFLP koşulları Tablo 3.5.'deki gibi uygulanmıştır.

**Tablo 3.5.** SOCS-1 Geni Promotör -1478 CA/del polimorfizmi restriksiyonunda kullanılan RFLP koşulları

Reaksiyon Aşaması	Sıcaklık(°C)	Süre	Döngü sayısı
İnkübasyon	37	16 saat	1
İnaktivasyon	65	20 dakika	1
Bekleme	4	∞	∞

Kesim reaksiyonu tamamlandıktan sonra, örnekler elektroforez uygulanmak üzere +4°C buzdolabına kaldırıldı.

### 3.3.2.2.2. SOCS-1 Geni 1335 G/C (rs11549428) Tek Nükleotid Polimorfizmi

Bu gen bölgesindeki SNP varlığının belirlenmesi için Chan HC ve ark. [90]'nın çalışmalarındaki protokol uygulandı. Polimorfizmden sorumlu gen bölgesi önce primer spesifik PZR tekniği (Tablo 3.6.) ile çoğaltıldı daha sonra çoğaltılan bu bölge *HPY188III* enzimi ile kesilerek polimorfizm varlığı saptandı.

**Tablo 3.6.** SOCS-1 Ekson2 1335 G/C (rs11549428) SNP PZR-RFLP yönteminde kullanılan primer dizileri [90].

Polimorfizm Bölgesi	Primer Adı	Nükleotid dizisi (5'-3')	Uzunluk (bç)
SOCS-1 Ekson2	1335 G/C-F	GCTGCTGGAGCACTACGTG	439
1335 G/C	1335 G/C-R	CCAGATACAGTTAAGCTGCTAC	

PZR karışımı steril, temiz kabinlerde hazırlandı. Toplam son hacim 50 µl olacak şekilde nükleaz free distile su, 10X PZR tamponu [(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>] (Thermo Scientific), MgCl<sub>2</sub> (Thermo Scientific), dNTP (Thermo Scientific), primerler (1335-F ve 1335-R), Taq DNA polimeraz (Thermo Scientific) DMSO ve izole edilen DNA konularak hazırlandı. Her bir örnek için reaksiyon karışımı Tablo 3.7.'de belirtilmiştir.



**Tablo 3.7.** SOCS-1 Geni Ekson2 1335 G/C polimorfizmi PZR reaksiyon karışımı

<b>PZR malzemeleri</b>	<b>Miktar</b>
NFDS	28.1 µl
10X PZR tamponu	5 µl
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	4 µl
DMSO	6 µl
dNTP mix (10 mM)	1 µl
1335G/C-F (100 pmol/µl)	0.3 µl
1335G/C-R (100 pmol/µl)	0.3 µl
Taq DNA polimeraz (5U/µl)	0.3 µl
Toplam PZR karışımı hacmi	45 µl
DNA	5 µl
<b>Toplam hacim</b>	<b>50 µl</b>

Oluşturulan PZR karışımı vortekste karıştırıldıktan sonra, her bir örneğe ait steril 0.2 ml'lik PZR tüplerine 45 µl olacak şekilde paylaştırıldı. Tüplere 5'er µl DNA örneği konulup ısı döngü cihazına yerleştirildi. SOCS-1 geni ekson2 1355G/C polimorfizmi için ısı döngü cihazında PZR koşulları Tablo 3.8.'teki gibi uygulanmıştır.

**Tablo 3.8.** SOCS-1 Geni Ekson2 1335G/C polimorfizmi amplifikasyonunda kullanılan PZR koşulları

<b>Reaksiyon Aşaması</b>	<b>Sıcaklık(°C)</b>	<b>Süre</b>	<b>Döngü Sayısı</b>
İlk Denatürasyon	95	6 dakika	
Denatürasyon	95	30 saniye	
Primer Bağlanması (Annealing)	55	30 saniye	35
Zincir Uzaması (Extension)	72	30 saniye	
Son Uzaması (Extension)	72	7 dakika	
Bekleme	4	∞	∞

Termal döngü cihazında reaksiyon tamamlandıktan sonra primer spesifik PZR tekniği ile amplifiye edilen 439 bp'lik bölge *Hpy188III* restriksiyon endonükleaz enzimi ile kesildi. PZR-RFLP yönteminde her bir örnek için reaksiyon karışımı Tablo 3.9.'da belirtilmiştir.

**Tablo 3.9.** SOCS-1 Geni Ekson2 1335G/C polimorfizmi RFLP reaksiyon karışımı

<b>RFLP malzemeleri</b>	<b>Miktar</b>
10X Buffer <i>HPY188III</i>	2,5 µl
Restriksiyon enzimi ( <i>HPY188III</i> )	0,5 µl
PZR ürünü	10 µl
<b>Toplam hacim</b>	<b>13 µl</b>

Hazırlanan RFLP karışımı vortekste karıştırıldıktan sonra, her bir örneğe ait steril 0.2 ml'lik PZR tüplerine 3 µl olacak şekilde paylaştırıldı. Üzerlerine de 10'ar µl PZR ürünü konulup ısı

döngü cihazına yerleştirildi. SOCS-1 geni ekson2 1335G/C polimorfizmi için ısı döngü cihazında RFLP koşulları Tablo 3.10.'daki gibi uygulanmıştır.

**Tablo 3.10.** SOCS-1 Geni Ekson2 1335G/C polimorfizmi restriksiyonunda kullanılan RFLP koşulları

Reaksiyon Aşaması Sayısı	Sıcaklık (°C)	Süre	Döngü
İnkübasyon	37	16 Saat	1
İnaktivasyon	80	20 Dakika	
Bekleme	4	∞	∞

Kesim reaksiyonu tamamlandıktan sonra, örnekler elektroforez uygulanmak üzere +4°C buzdolabına kaldırıldı.

### 3.3.2.3. Agaroz Jel Elektroforez İşlemi

PZR yöntemi ile SNP'den sorumlu gen bölgeleri çoğaltıldıktan sonra %1'lik agaroz jel etidyum bromid (Et-Br) ile boyandı, amplifikasyon ürünleri jele yüklendi ve elektroforez yapıldı. Jelde yürütülen DNA'ların uzunlukları, moleküler ağırlık standardı ile karşılaştırılarak tespit edildi. Beklenen uzunlukta DNA bulunan amplifikasyon ürünlerine RFLP reaksiyonu ile kesim işlemi yapıldıktan sonra ürünler %2'lik agaroz jelin etidyum bromid (Et-Br) ile boyanmasının ardından yukarıda anlatıldığı gibi jele yüklendi ve elektroforezi yapıldı. Elektroforez tamponu olarak Tris-Borik Asit-Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) [TBE] kullanıldı. 10X TBE tamponu kullanım sırasında 1/10 oranında distile su ile sulandırıldı ve 1X TBE şeklinde kullanıldı.

- **Agaroz Jelin Hazırlanması**

Erlen Mayer içerisine PZR ürünleri için jel konsantrasyonu %1 olacak şekilde 1 gr agaroz ve 100 ml 1X TBE solüsyonu eklendi, RFLP ile kesim ürünleri için ise %2'lik olacak şekilde 2 gr agaroz ve 100 ml 1X TBE solüsyonu konularak ve homojen saydam hale gelinceye kadar mikrodalga fırında ısıtıldı. Biraz soğuduktan sonra çeker ocak içerisinde Et-Br'den jel içine 6 µl eklendi ve elle homojen dağılması için çalkalandı. Daha sonra jel, tarakların yerleştirildiği jel tepsisine yavaşça döküldü. Katılaşana kadar (20-30 dakika) oda sıcaklığında bekletildi.

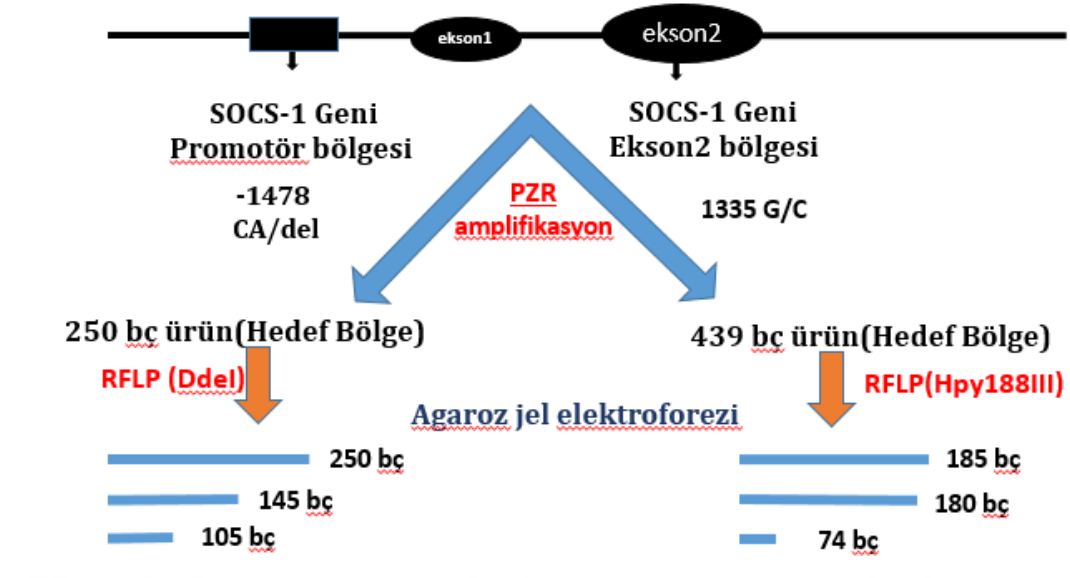
- **Agaroz jele yükleme yapılması**

Katılaşan jel elektroforez tankına yerleştirildi. PZR-RFLP reaksiyonları ile amplifiye edilip ardından kesim yapılan ürünlerden 12'şer µl alınarak parafilm üzerinde 2 µl 1X TBE ile hazırlanmış yükleme tamponu (%20 süzkroz veya gliserol, %0.25 brom fenol mavisi) ile pipetaj yapılarak karıştırıldı. Daha sonra da elektroforez tankına yerleştirilen jelin kuyucuklarına sırasıyla yüklendi. Tankın kapağı kapatıldıktan sonra güç kaynağı çalıştırıldı. 130 mA akımda 35-40 dakika örneklerin jelde yürütmesi yapıldı. Yükleme tamponunun brom fenolden gelen mavi rengi takip edilerek jelin 2/3'lük kısmına gelindiğinde elektroforez işlemi durduruldu. Jel tanktan çıkarılarak 312 nm dalga boyunda ışık veren UV-translüminatörü kullanılarak jel görüntüsü bilgisayara kaydedildi.

#### **3.3.2.4. Tek Nükleotid Polimorfizminden Sorumlu Gen Bölgelerinin Tespiti**

SOCS-1 geni Promotör bölgesinde bulunan -1478 CA/del tek nükleotid polimorfizminden sorumlu gen bölgesi PZR reaksiyonu ile amplifiye edildikten sonra, PZR ürünleri RFLP yöntemi kullanılarak *DdeI* kesim enzimi ile kesildi. Agaroz jel elektroforezinde PZR ürünleri için hedef bölge uzunluğu 250 bç iken kesim sonucu oluşan bant paternleri; 250, 145 ve 105 bç uzunluğundaydı (250 bç-del/del homozigot; 250-145-105 bç -CA/del heterozigot; 145-105 bç-CA/CA homozigot).

SOCS-1 geni ekson2'de bulunan 1335 G/C tek nükleotid polimorfizminden sorumlu gen bölgesi PZR reaksiyonu ile amplifiye edildikten sonra RFLP yöntemi kullanılarak *Hpy188III* kesim enzimi ile amplifikasyon ürünlerine kesim işlemi uygulandı. Agaroz jel elektroforezinde PZR ürünleri için hedef bölge uzunluğu 439 bç iken kesim sonucu oluşan bant paternleri; 185-180-74 bç uzunluğundaydı (439 bç-G/G homozigot; 439-185-180-74 bç- G/C heterozigot; 185-180-74 bç-C/C homozigot) (Şekil 3.1.)



Şekil 3.1. -1478 CA/del ve 1335 G/C SNP'lerinin bant paternleri.

### 3.3.3. İstatistiksel Analiz

Hasta ve kontrol gruplarında, ARB pozitif ve ARB negatif gruplarında, cinsiyete göre genotiplerin ve allellerin ilişkileri incelenmesinde Ki-Kare testi kullanılmıştır. Genotiplerin dengede olup olmadığı Hardy-Weinberg testi ile kontrol edilmiştir. Cinsiyetin gruplara göre dağılımında Ki-Kare testi, yaşın gruplara göre ortalamasının karşılaştırılmasında ise Student's t testinden yararlanılmıştır. Yaş için normallik kontrolü Shapiro Wilk testi ile yapılmıştır. Bütün analizlerde istatistik anlamlılık seviyesi 0,05 olarak alınmıştır ( $p < 0,05$ ).

#### 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

##### 4.1. Hasta ve Sağlıklı Kontrol Gruplarının Genel Özellikleri

Bu çalışmaya klinik materyalinde MTBC izole edilen 90 hasta örneği dahil edilmiştir. Hasta grubunu oluşturan örneklerin 28 (%31)'i Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan elde edilirken, 62 (%69)'si "Tüberküloz Hastalarında Sitokin Gen Polimorfizmi ve Genetik Yatkınlık" isimli çalışmaya ait koleksiyon örneklerinden elde edilen DNA'lar dır. Çalışmaya dahil edilen 90 hastanın 70 (%77.7)'i erkek, 20 (%22.3)'si kadındır ve yaş ortalamaları  $39,38 \pm 17,5$ 'dir. Cinsiyet ortalamaları bakımından hasta grubu ile uyumlu olan sağlıklı kontrol grubunu oluşturan 90 kişinin 73 (%81.1)'ü erkek, 17 (%18.9)'si kadındır, yaş ortalamaları  $31,39 \pm 11,90$  olduğu tespit edildi (Tablo 4.1.). Hasta ve kontrol grubunda yaş dağılımları homojen değildir ( $p=0,001$ ).

**Tablo 4.1.** Çalışmaya dahil edilen hasta ve sağlıklı kontrol gruplarının yaş ve cinsiyet dağılımı

Demografik Özellikler	Hasta Grubu(n=90)	Kontrol Grubu(n=90)
Yaş	39,38±17,5	31,39±11,90
Cinsiyet		
Kadın	20(%22.3)	17(%18.9)
Erkek	70(%77.7)	73(%81.1)

Hastaların 81 (%90)'i akciğer TB iken, 9 (%10)'u akciğer dışı TB olarak tespit edildi. Hastaların 85 (%94)'i yeni tanı konmuş TB hastası iken, 5 (%6)'inde daha önceden geçirilmiş TB öyküsü (nüks TB) olduğu belirlendi (Tablo 4.2.).

**Tablo 4.2.** Hasta grubunu oluşturan 90 kişinin tanısı

Tanı	Yeni Hasta	Nüks TB	Toplam
Akciğer TB	77 (%85,5)	4 (%4.5)	81 (%90)
<u>Akciğer dışı TB</u>			
Eklem TB	1 (%1.1)	-	1 (%1.1)
Granülomatöz mastit	1 (%1.1)	-	1 (%1.1)
TB Lenfadenit	1 (%1.1)	1 (%1.1)	2 (%2,2)
TB plörezi	3 (%3.3)	-	3 (%3.3)
Larinks TB	1 (%1.1)	-	1 (%1.1)
Yumuşak doku TB	1 (%1.1)	-	1 (%1.1)
Toplam	85 (94.5)	5 (%5.5)	90 (%100)

Hastaların cinsiyet, TB'nin tutulum yeri ve ARB sonuçlarına göre dağılımı Tablo 4.3.'de verilmiştir. Hastaların 58 (%64)'inde asido rezistan basil pozitifliği belirlendi. ARB (+) hastaların 47 (%52.2)'si erkek, 11 (%12.2)'i kadın hastaydı. Erkek hastaların tamamı akciğer TB'si iken

kadın hastaların 9 (%10)'u akciğer TB'si ve 2 (%2.2)'si akciğer dışı TB olarak saptandı. Toplamda kültür pozitif olan 32 hastanın ARB'si negatifti.

**Tablo 4.3.** Tutulum yeri, cinsiyet ve ARB sonuçlarına göre hastaların dağılımı

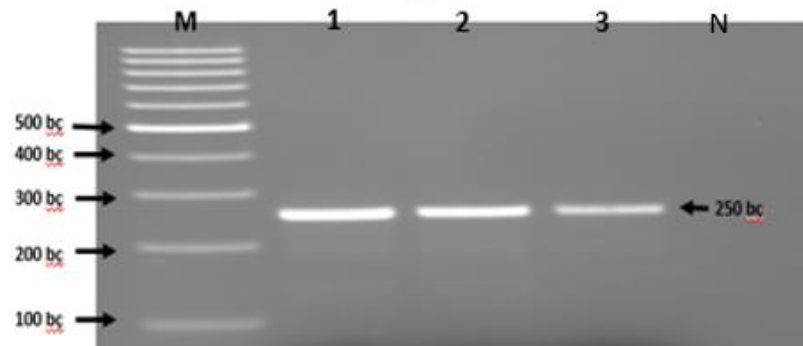
Hastalar	Akciğer TB'si		Akciğer dışı TB		Toplam
	Erkek	Kadın	Erkek	Kadı	
ARB(+)	47(%52.2)	9(%10)	-	2(%2.2)	58(%64.4)
ARB(-)	18 (%20)	7(%7.7)	5(%5.5)	2(%2.2)	32(%35.5)
Toplam	65(%72.2)	16(%17.7)	5(%5.5)	4(%2.2)	90(%100)

## 4.2. Bulgular

TB hastalığına olan yatkınlık ya da direnç ile ilişkilendirmeye çalıştığımız SOCS-1 gen polimorfizmleri için, 90 hasta 90 sağlıklı kontrol ile çalışılmış olup, SOCS-1 promotör -1478 CA/del ve ekson2'de bulunan 1335 G/C tek nükleotid polimorfizmleri PZR-RFLP yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır. Literatür taraması sonucunda, TB hastalığı ile SOCS-1 gen polimorfizmi ilişkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır, bu anlamda yapılan ilk çalışma bize aittir.

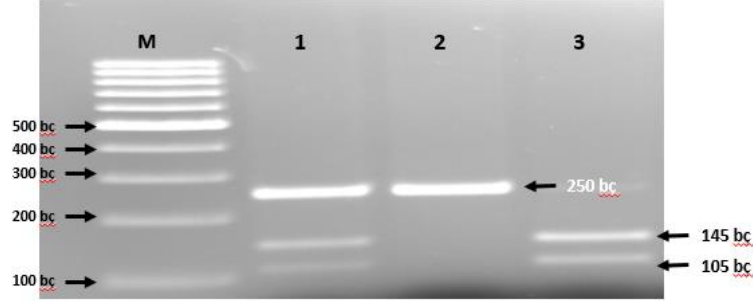
### 4.2.1. SOCS-1 Geni Promotör -1478 CA/del Tek Nükleotid Polimorfizm Sonuçları

Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarından elde edilen ve çalışma zamanına kadar -20°C'de saklanan DNA örneklerinin primer spesifik PZR tekniği ile amplifikasyonu gerçekleştirildi. Amplifikasyon sonrası elde edilen 250 bç'lik PZR ürünlerinin %1'lik agaroz jel elektroforezi görüntüsü Şekil 4.1.'de verilmiştir.



**Şekil 4.1.** SOCS-1 Geni Promotör -1478 CA/del tek nükleotid polimorfizminden sorumlu gen bölgesinin primer spesifik PZR yöntemi ile amplifikasyonu sonrası oluşan 250 bç'lik bölgenin %1'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü [Kuyu M: 100 bç DNA moleküler ağırlık standardı (GeneRuler 100 bp DNA Ladder, SM0241, Thermo Scientific), Kuyu 1, 2, 3: 250 bç'lik amplifikasyon ürünleri. N: Negatif kontrol].

Daha sonra *DdeI* restriksiyon endonükleaz enzimi ile ampliconların kesimi yapılarak polimorfizm varlığı araştırıldı. RFLP sonucunda oluşan fragman uzunlukları %2'lik agaroz jel elektroforezinde 250 bç (del/del); 250, 145 ve 105 bç (CA/del); 145 ve 105 bç (CA/CA) şeklinde görüldü (Şekil 4.2.).



**Şekil 4.2.** SOCS-1 Geni Promotör -1478 CA/del tek nükleotid polimorfizmi PZR ürünlerinin *DdeI* restriksiyon enzimi ile kesimi sonucu oluşan fragman uzunluklarının %2'lik agaroz jel elektroforezi görüntüsü. [Kuyu M: 100 bç DNA moleküler ağırlık standardı (GeneRuler 100 bp DNA Ladder, SM0241, Thermo Scientific), Kuyu 1: CA/del Heterozigot (250 bç+145 bç+105 bç), Kuyu 2: del/del Homozigot (250 bç), Kuyu 3: CA/CA Homozigot (145 bç+105 bç)].

Agaroz jel elektroforez sonrası oluşan bant paternlerinin incelenmesi sonrası hasta ve sağlıklı kontrol gruplarındaki allel ve genotip dağılımı Tablo 4.4.'de verilmiştir.

**Tablo 4.4.** Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarındaki SOCS-1 Geni Promotör -1478 CA/del genotip ve allel dağılımı

-1478 CA/del	Hasta Grubu (n=90)	Kontrol Grubu (n=90)	P	Odds	%95 GA	P
<b>Genotip</b>						
CA/CA	35 (%38,9)	33 (%36,7)		Ref.		
CA/del	47 (%52,2)	42 (%46,6)	0,291	1.055	0.561-1.985	0,868
del/del	8 (%8,9)	15 (%16,7)		0.503	0.188-1.341	0,169
<b>Allel</b>						
CA	117 (%62)	108 (%60)	0,327	0.808	0.527-1.239	0,328
del	63 (%35)	72 (%40)				

SOCS-1 geni -1478 CA/del nükleotid polimorfizmi için hasta ( $p=0,160$ ) ve kontrol ( $p=0,790$ ) grubunda genotip dağılımı Hardy-Weinberg dengesinde bulunurken, hasta ve kontrol gruplarının allel ( $p=0,327$ ) ve genotip ( $p=0,291$ ) dağılımı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermediği sonucuna varılmıştır ( $p>0,05$ ). Sitokin sinyalinin düzenlenmesinden sorumlu olan bu gen bölgesinde SNP sonuçlarına göre CA alleli hasta (%62) ve kontrol (%60) grubunda daha sık bulunmaktadır.

ARB sonuçlarına göre yapılan dağılımda ARB Pozitif ( $p=0,054$ ) ve ARB Negatif ( $p=0,930$ ) gruplarında genotip dağılımı Hardy-Weinberg dengesindedir bulunmuştur. ARB pozitif ve ARB negatif grupların genotip ( $p=0,243$ ) ve allel ( $p=0,396$ ) dağılımları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkisi bulunamamıştır ( $p>0,05$ ). SNP sonuçlarına göre CA alleli hem ARB pozitif grupta (%67,2) hem de ARB negatif grupta (%61) daha sık olduğu bulunmuştur (Tablo 4.5.).

**Tablo 4.5.** TB tanılı 90 hastanın ARB sonuçlarına göre allel ve genotip dağılımı

-1478 CA/del	ARB Pozitif (n=58)	ARB Negatif (n=32)	P	Odds	95 GA%	P
<b>Genotip</b>						
CA/CA	23 (%39,7)	12 (%37,6)		Ref.		
CA/del	32 (%55,1)	15 (%46,8)	0,243	1.113	0.440-2.819	0,821
del/del	3 (%5,2)	5 (%15,6)		0.313	0.064-1.539	0,153
<b>Allel</b>						
CA	78 (%67,2)	39 (%61)	0,396	0,760	0.403- 1.433	0,397
del	38 (%32,8)	25 (%39)				

Çalışmaya dahil edilen 90 hastanın 81 (%90)'i akciğer TB'si tanısı almıştır. ARB pozitif (n=56) ve negatif (n=25) olarak iki gruba ayrılan bu hastalar, genotip dağılımı bakımından Hardy-Weinberg dengesindedir (sırayla;  $p=0,060$  ve  $p=1,00$ ). Her iki grupta da SOCS-1-1478 CA/del polimorfizm varlığı araştırılan gen bölgesi için allel ( $p=0,391$ ) ve genotip ( $p=0,288$ ) dağılımları istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ) (Tablo 4.6.).

**Tablo 4.6.** Akciğer TB'si tanısı alan 81 hastanın ARB sonuçlarına göre allel ve genotip dağılımı

-1478 CA/del	ARB Pozitif (n=56)	ARB Negatif (n=25)	P	Odds	95 GA%	P
<b>Genotip</b>						
CA/CA	22 (%39,3)	9 (%36)		Ref.		
CA/del	31 (%55,4)	12 (%48)	0,288	1.057	0.380- 2.938	0,916
del/del	3 (%5,3)	4 (%16)		0.307	0.057-1.656	0,170
<b>Allel</b>						
CA	75 (% 67)	30 (%60)	0,391	0.740	0.371-1.474	0,320
del	37 (%33)	20 (%40)				

Allel ve genotip dağılımlarının cinsiyete göre yapılan karşılaştırmasında; Kadın hasta ( $p=0,260$ ) ve kontrol ( $p=0,200$ ) grubunda genotip dağılımı ile Erkek hasta ( $p=0,310$ ) ve kontrol ( $p=0,360$ ) grubunda genotip dağılımı Hardy-Weinberg dengesinde bulunmuştur. Kadın grubunda hasta ve kontrollerde genotip ( $p=0,904$ ) ve allel ( $p=0,721$ ) dağılımı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır (Tablo 4.7.).



**Tablo 4.7.** SOCS-1 Geni Promotör -1478 CA/del polimorfizminin kadın cisiyetine göre allel ve genotip dağılımları

-1478 CA/del	<b>Kadın</b>		<i>P</i>	<b>Odds</b>	<b>%95 GA</b>	<i>P</i>
	<b>Hasta (n=20)</b>	<b>Kontrol (n=17)</b>				
<b>Genotip</b>						
CA/CA	6 (%30)	4 (%23,5)		Ref.		
CA/del	12 (%60)	11 (%64,8)	0,904	0.727	0.161-3.281	0,679
del/del	2 (%10)	2 (%11,7)		0.667	0.065-6.872	0,733
<b>Allel</b>						
CA	24 (% 60)	19 (%55,9)	0,721	0.844	0.334-2.133	0,721
del	16 (%40)	15 (%44,1)				

Erkek grubunda da aynı şekilde hasta ve kontrol grubunun genotip ( $p=0,252$ ) ve allel ( $p=0,336$ ) sıklığı bakımından herhangi bir farklılık içermediği görülmektedir. Cinsiyet farklılığına göre yapılan kontrol ve hasta grupları arasındaki bu karşılaştırmada her iki grubun kontrol ve hasta allellerinde CA allel'inin daha sık olduğu görülmektedir (Tablo 4.8.).

**Tablo 4.8.** SOCS-1 Geni Promotör -1478 CA/del polimorfizminin erkek cisiyetine göre allel ve genotip dağılımları

-1478 CA/del	<b>Erkek</b>		<i>P</i>	<b>Odds</b>	<b>%95 GA</b>	<i>P</i>
	<b>Hasta (n=70)</b>	<b>Kontrol (n=73)</b>				
<b>Genotip</b>						
CA/CA	29 (%41,4)	29 (%39,7)		Ref.		
CA/del	35 (%50)	31 (%50,1)	0,252	1.129	0.557-2.288	0,736
del/del	6 (8,6)	13 (%10,2)		0.462	0.154-1.381	0,167
<b>Allel</b>						
CA	93 (%66,4)	89 (%61)	0,336	0.789	0.487-1.278	0,337
del	47 (%33,6)	57 (%39)				

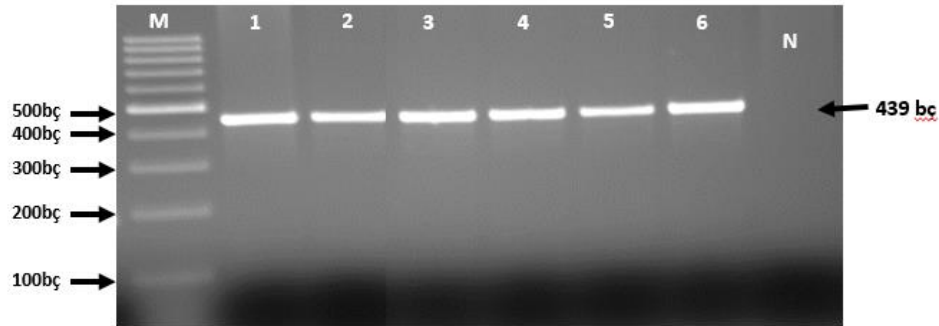
MTBC tanılı 90 hasta akciğer ve akciğer dışı TB olarak iki gruba ayrıldı. Bu iki grup arasında polimorfizm bakımından anlamlı fark olup olmadığına bakıldı. Genotip dağılımı bakımından HW dengesinde (sırayla;  $p=0,140$  ve  $p=0,999$ ) bulunan gruplarda allel ( $p=0,876$ ) ve genotip ( $p=0,882$ ) dağılımı bakımından anlamlı fark olmadığı tespit edildi (Tablo 4.9).

**Tablo 4.9.** SOCS-1 Geni Promotör -1478 CA/del polimorfizm sonuçlarının Akciğer ve Akciğer dışı hasta örneklerine göre allel ve genotip dağılımları

Polimorfizm bölgesi	Akciğer TB (n=81)	Akciğer dışı TB (n=9)	P
<b>SOCS-1 -1478 CA/del</b>			
<b>Genotip</b>			
CA/CA	31 (%38,3)	4 (%44,4)	0,882
CA/del	43 (%53,1)	4 (%44,4)	
del/del	7 (%8,6)	1 (%11,2)	
<b>Allel</b>			
CA	105 (% 64,8)	12 (%60)	0,886
del	57 (%35,2)	6 (%40)	

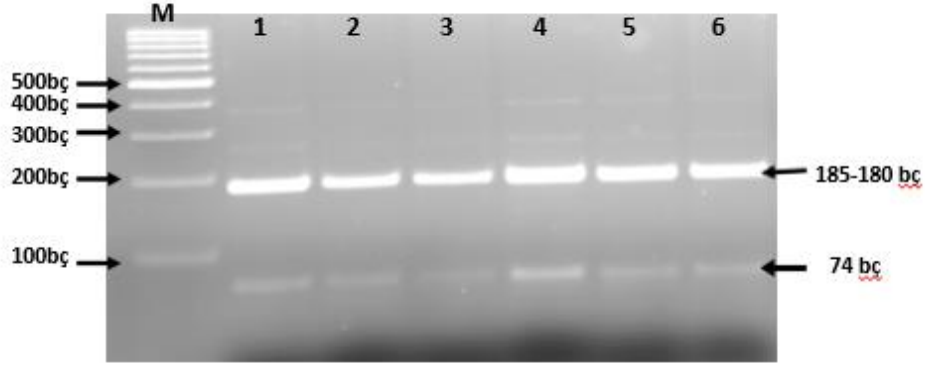
#### 4.2.2. SOCS-1 Geni Ekson2 1335 G/C Tek Nükleotid Polimorfizmi Sonuçları

Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarından elde edilen ve çalışma zamanına kadar -20°C'de saklanan DNA örneklerinin primer spesifik PZR tekniği ile amplifikasyonu gerçekleştirildi. Amplifikasyon sonrası elde edilen 439 bç'lik PZR ürünlerinin %1'lik agaroz jel elektroforezi görüntüsü şekil 4.3.'de verilmiştir.



**Şekil 4.3.** SOCS-1 Geni 1335 G/C tek nükleotid polimorfizminden sorumlu gen bölgesinin primer spesifik PZR yöntemi ile amplifikasyonu sonrası oluşan 439 bç'lik bölgenin %1'lik agaroz jel elektroforez görüntüsü [Kuyu M: 100 bç DNA moleküler ağırlık standardı (GeneRuler 100 bp DNA Ladder, SM0241, Thermo Scientific), Kuyu 1-6: 439 bç'lik amplifikasyon ürünleri, Kuyu 7: Negatif kontrol].

Daha sonra *Hpy188III* restriksiyon endonükleaz enzimi ile ampliconların kesimi yapılarak polimorfizm varlığı araştırıldı. RFLP sonucunda oluşan fragman uzunlukları %2'lik agaroz jel elektroforezinde 185, 180, 74 bç şeklinde görüldü (Şekil 4.4.).



**Şekil 4.4.** SOCS-1 Geni 1335 G/C tek nükleotid polimorfizminden sorumlu gen bölgesi PZR ürünlerinin *Hpy188III* restriksiyon enzimi ile kesimi sonucu oluşan fragman uzunluklarının %2'lik agaroz jel elektroforezi görüntüsü. [Kuyu M: 100 bç DNA moleküler ağırlık standardı (GeneRuler 100 bp DNA Ladder, SM0241, Thermo Scientific), kuyu 1-6: C/C homozigot (185 ve 180 DNA parçaları parçaları, 74 bç'lik DNA parçası)].

Agaroz jel elektroforez sonrası oluşan bant paternlerinin incelenmesi sonrası hasta ve sağlıklı kontrol gruplarındaki genotip dağılımı Tablo 4.10.'da verilmiştir.

**Tablo 4.10.** Hasta ve sağlıklı kontrol gruplarındaki SOCS-1 Geni Ekson2 1335 G/C genotip dağılımı

Polimorfizm bölgesi	Hasta Grubu (n=90)	Kontrol Grubu (n=90)
<b>SOCS-1 1335 G/C Genotip</b>		
G/G	-	-
G/C	-	-
C/C	90	90

SOCS-1 geni ekson2 bölgesinde varlığı araştırılan 1335 G/C tek nükleotid polimorfizmi hem hasta hem de kontrol grubunda C/C genotipinde bulunmuştur. Sitokin üretimine bağlı olarak ortaya çıkan inflamasyonun düzenlenmesinde önemli görevi olan SOCS-1 geninde araştırdığımız tek nükleotid polimorfizimlerinin TB hastalarında hastalığa olan yatkınlık ya da dirençte etkili olduğunu gösterecek herhangi bir veriye rastlanılmamıştır.

### 4.3. Tartışma

TB ile enfekte olmuş bireylerin yaklaşık %90'ında enfeksiyon latent olarak kalırken, %10'unda aktif hastalık gelişmektedir. Bu durum TB enfeksiyonunun ilerlemesinde konakçı genetik faktörlerinin önemli bir rolü olduğunu düşündürmektedir. Yapılan çalışmalarda TB hastalarında; NRAMP1, TLR2, IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1RA, IL-10, D vitamini reseptörü, ICAM-3, DC-SIGN, MBL, NOD2, SOCS-3, CIS1, IFN- $\gamma$ , iNOS gibi genlerdeki SNP'ler incelenmiştir. Bu genlerde meydana gelen polimorfizimler konakçının hastalığa olan duyarlılığı, hastalığın şiddeti ve gelişimiyle ilişkilendirilmiştir [96].

SOCS ailesi üyelerinden olan SOCS-3 gen ekspresyonunun TB'yi indüklediği [97] ve hatta SOCS-3'ün aktif TB'nin sağlıklı kişilerden ve latent olarak enfekte bireylerden ayrımını sağladığı bildirilmiştir [9]. TB ile SOCS-3 arasındaki bu ilişkinin SOCS-3 geninde bulunan polimorfizmlerden etkilenmiş olabileceği hipotezine dayanarak Chou-Jui Lin ve ark.'nın Tayvan'da aktif TB'li hastalarla yaptıkları bir çalışmada, rs8064821, rs4969168, rs2280148 ve rs35037722 SNP'leri TaqMan SNP Genotipleme yöntemiyle araştırılmış ve SOCS-3 gen ekspresyon seviyesi Real Time PZR yöntemi ile belirlenmiştir. Çalışmaya dahil edilen 210 TB'li hasta ve 200 sağlıklı kontrol grubu arasında allel ve genotip sıklığı bakımından anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, erkek hastaların yaşı için OR analizi tekrar hesaplanmış ve sonuçta rs35037722 SNP'de GG homozigot genotipine sahip erkek bireyler ile TB'ye olan duyarlılık arasında ilişkili olduğu bildirilmiştir. Ayrıca  $\leq 65$  yaş ve altındaki hastalarda rs8064821'deki A taşıyıcı (AA ve AC) genotipi, CC genotipine kıyasla TB'ye yakınlıkla ilişkilendirilmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda belirli SOCS-3 SNP'lerinin Han-Tayvan popülasyonunda cinsiyete veya yaşa bağlı olarak TB duyarlılığında etkili olabileceği bildirilmiştir, fakat hasta ve kontrol gruplarında SOCS-3 ekspresyon seviyesi ile araştırılan SNP'ler arasında ilişki saptanmamıştır [98].

SOCS ailesinin 8 üyesinden biri olan sitokinle indüklenen SH2 domain (CISH) proteini STAT5 ve STAT6 aktivitesini inhibe etmekte ve aynı zamanda STAT-bağımsız olarak T hücre reseptör (TCR) sinyalinin regülasyonunu sağlamaktadır [99, 100]. İnsanda *M. tuberculosis* enfeksiyonuna karşı oluşan T hücre aktivasyonunda [101] ve farklılaşmasında CISH'in önemli düzenleyici rolü olabileceği öne sürülmüştür [102]. Çin'de yapılan çalışmalar CISH geninde bulunan SNP'lerin TB riskini artırdığını göstermektedir. Afrika ve Asya topluluklarında CISH geninde tespit edilen 5 SNP'nin bakteriyemi, TB ve malarya riskini artırdığı görülmüştür [101-103]. Çin'de 600 akciğer TB'li hasta ve 618 sağlıklı kontrol grubu ile yapılan bir vaka kontrol çalışmasında; CISH promotör bölgesinde bulunan rs414171 SNP'si için T alleli ve translasyon başlama bölgesinin yakınında bulunan rs2239751 SNP'si için C alleli kadınlarda ve <45 yaş altındaki bireylerde TB'ye duyarlılıkla ilişkili bulunmuştur. Ayrıca periferik kan mononükleer

hücrelerinin rs414171 TT genotipinin, AA veya AT genotipini taşıyan hücrelere göre daha düşük bir CISH mRNA seviyesine sahip olduğu saptanmıştır [103]. DSÖ 2013 TB raporuna göre 6 ana DSÖ bölgesinde; yeni olgulardaki erkek/kadın TB oranının 1,7'den 2,1'e yükseldiği bildirilmiştir (Çin'de 2014 yılında bu oran 2,5). Erkeklerde ve kadınlarda TB prevalansındaki bu fark, östrojenle regüle edilen spesifik immün fonksiyona bağlı olabileceği düşünülmüştür [103]. Çin'de yapılan benzer bir çalışmada, çocuklarda (2-18 yaş) rs8099451 G/C, rs414171 A/T ve rs622502 C/G CISH Promotör SNP'leri araştırılmıştır. rs809451 C ( $p=0,002$ ) ve rs414171 T ( $p=0,016$ ) alleli TB için risk faktörü olabilirken, rs622502 SNP'si ile hastalık arasında anlamlı bir ilişki olmadığı rapor edilmiştir. rs8099451 GC, rs414171 TT genotipindeki bireylerde CISH ekspresyon seviyesininde kontrol grubuna göre daha düşük olduğu bildirilmiştir [12].

*M. tuberculosis* enfeksiyonuna karşı koruyucu immün yanıt, sitokinler tarafından regüle edilen konakçı T hücreleri ve makrofajlar arasındaki etkileşime bağlıdır. CD4<sup>+</sup> T hücreleri tarafından salınan IFN- $\gamma$ , TB enfeksiyonunun önlenmesinde kilit rol oynamaktadır. IFN- $\gamma$ 'nın makrofaj ve dentritik hücrelerden salınan TNF- $\alpha$  ve IL-12 sitokinleri ile etkileşimi hastalığa karşı koruyucu immünitenin temelini oluşturmaktadır. T-reg hücreleri tarafından salınan IL-10 ve TGF- $\beta$ , IFN- $\gamma$ 'nın aksine hastalığın ilerlemesine neden olmaktadır [97]. Tüm bu sitokinlerin üzerinde negatif düzenleyici etkiye sahip SOCS ailesi üyeleri, birçok inflamatuvar hastalıkta olduğu gibi TB enfeksiyonunda da konağın immün yanıtının düzenlenmesinde etkin rol oynamaktadır. Lee ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, aktif TB, latent TB ve sağlıklı kontrol grupları ile yapılan bir çalışmada, SOCS-3 mRNA seviyesinin aktif hasta grubunda latent ve sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek olduğu, SOCS-2,-4,-5,-6,-7 ve CIS1 mRNA seviyesinin ise düşük olduğu saptanırken, grupların hiç birinde SOCS-1 mRNA seviyesinde anlamlı bir farklılık saptanmıştır [9]. Bunun aksine Pakistan'da Masood ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada ise, akciğer ve akciğer dışı TB'li hastalarda SOCS-1 mRNA seviyesinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu ve hastalığın şiddeti ile korele olduğu tespit edilmiştir [97]. Chen ve ark.'nın Çin'de Han popülasyonu üzerinde yaptıkları bir çalışmada, 11p13 bandındaki nadir varyantlardan olan rs2057178 C/T SNP'nin TB duyarlılığı ile ilişkisi araştırılmıştır. Çalışma sonucunda; T allelinin TB için predispozan faktör olduğu tespit edilirken ( $\chi^2 = 14.07$ ,  $p = 0.0002$ ), CT genotipinin TB riskini ve (adjusted OR = 0.52, 95% CI, 0.34–0.78) enfeksiyonla ilişkili bir gen olan SOCS2'nin ekspresyon seviyesini azalttığı saptanmıştır. SOCS2'nin ekspresyon seviyesinin rs2057178 ile korele olmasından dolayı TB duyarlılığının belirlenmesinde SOCS2'nin aday gen olabileceği düşünülmüştür [104]. Mikobakteriyel enfeksiyonlarda SOCS-1'in indüklenmesi, IFN- $\gamma$  yanıtını inhibe ederek basil yükünün artmasına yol açmaktadır. Mikobakteri hücre duvarı ile ilişkili bir glikolipit olan teraloz 6,6'dimikolat (kord faktör) [105], SOCS-1 ve SOCS-3 genlerinin ekspresyonunu indüklemenin yanı sıra hücrelerde IFN- $\gamma$  tarafından uyarılan STAT1

fosforilasyonunu inhibe etmektedir. Böylece mikobakteriyel antijenler konakta basil yükünün artmasına neden olmaktadır [106].

Daha önce yapılan çalışmalarda astımlı hasta grubunda SOCS-1 geninde bulunan -1478 CA/del polimorfizminin fonksiyonel etkinliği tespit edilmiştir [107]. Bu çalışmamızda -1478 CA/del polimorfizminin TB hastalığına yakınlıkla ilişkisi araştırılmıştır. Çalışmamızda, SOCS-1 geni -1478 CA/del (rs33989964) SNP'si için hasta ( $p=0,160$ ) ve kontrol ( $p=0,790$ ) grubunda genotip dağılımı Hardy-Weinberg dengesinde bulunurken, hasta ve kontrol gruplarının allel ( $p=0,327$ ) ve genotip ( $p=0,291$ ) dağılımı bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermediği sonucuna varılmıştır ( $p<0,05$ ). Sitokin sinyalinin düzenlenmesinden sorumlu olan bu gen bölgesinde SNP sonuçlarına göre CA alleli hasta (%62) ve kontrol (%60) grubunda "del" alleleline göre daha sık bulunmuştur.

SOCS-1, inflamatuvar hastalıklar ile ilişkili birçok sitokin sinyalini negatif feedback yoluyla düzenler. SOCS-1'in protein seviyesindeki düşüşü bu mekanizmasının bozulmasına ve aşırı inflamasyona neden olabilmektedir. Chan ve ark.'nın Tayvan'da 147 romatoit artritli hasta ve 96 sağlıklı kontrol grubu ile yaptıkları çalışmada, SOCS-1 geni promotör bölgesinde bulunan -1478 CA/del varlığının ve SOCS-1 mRNA ekspresyon seviyesinin hastalığa olan yakınlıkla ilişkisi araştırılmıştır. SOCS-1 mRNA seviyesi ile hastalık arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır. Ayrıca hasta ve kontrol grubunda -1478 CA/del SNP ile romatoit artrit arasında anlamlı bir ilişki tespit edilememiştir [90].

TB hastalarında azalan SOCS ekspresyonu sitokin sinyali üzerinde birçok etkiye sahiptir; granuloma/kazeöz nekroz oluşumuna ve TNF- $\alpha$  aktivitesinin artışına yol açabilmektedir. Artan TNF- $\alpha$  aktivitesi ile *M. tuberculosis* tarafından uyarılan ve monositlerden salınan matris metaloproteinaz (MMP)-9, doku hasarına ve granüloma oluşumuna neden olmaktadır [108].

Kahn ve ark.'ları tarafından SOCS gen ekspresyon baskılanmasının uyarılmasını içeren yolların, sitokin kaynaklı insülin direncine aracılık ettiği gösterilmiştir [109]. Gül ve ark.'nın Bursa'da polikistik over'lı hastalarla yaptıkları çalışmada, polikistik over sendromu-insülin direnci ilişkisinin SOCS-1 -1478 CA/del SNP'i ile ilişkisi araştırılmıştır. Çalışmaya 42 kadın hasta ve 42 sağlıklı kadın kontrol grubu dahil edilmiş olup, SNP varlığı PZR-RFLP yöntemi ile araştırılmıştır. Araştırma sonucunda hasta grubunda kontrol grubuna kıyasla yüksek insülin direnci, obezite ve dislipidemi olduğu tespit edilmiş ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır. Hasta ve kontrol gruplarının SOCS-1 -1478 CA/del polimorfizminin sıklığı bakımından bir farklılık göstermediği belirlenmiştir. Ayrıca SOCS-1 -1478 CA/del polimorfizmi ile insülin direnci ve polikistik over sendromu arasında anlamlı bir ilişki olmadığı tespit edilmiştir [95].

Harada ve ark.'nın Japonya'da astımlı hastalarla yaptıkları bir çalışmada, SOCS-1 geni üzerinde bulunan -5388 C/T, -3969 C/T ve -1478 CA/del (rs33989964) polimorfizimlerinin sıklığının yüksek olduğu tespit edilmiştir. Erişkin astım hastalarında insan akciğer epitelyal hücrelerindeki -1478 del allelinin SOCS1'in transkripsiyon seviyesini arttırdığı saptanmıştır. Böylece SOCS-1 promotör bölgesindeki -1478 CA/del polimorfizminin astıma olan duyarlılık ile ilişkili olduğu bildirilmiştir [107].

IL-6, IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  gibi pro-inflamatuar sitokinlerin ekspresyonu, kronik periodental inflamasyon sırasında SOCS-1 tarafından regüle edilmektedir. Brezilya'da yapılan bir vaka kontrol çalışmasında, SOCS-1 promotör bölgesinde bulunan -1478 CA/del ve -820 C/A polimorfizimleri ile kronik periodontitis arasındaki ilişki araştırılmıştır. -820 C/A polimorfizmi için A alleli hastalığa karşı duyarlılıkla ilişkili bulunurken, -1478 CA/del polimorfizminin hastalıkla ilişkisi olmadığı tespit edilmiştir [110].

Sistemik lupus eritematoz (SLE) patogeneğinde önemli rol oynayan prolaktin hormonunun [111] periferik kan mononükleer hücrelerindeki SOCS-1 ekspresyonunu indüklediği bulunmuştur. Chan ve ark.'ları tarafından Tayvan'da 107 SLE hastası ve 101 sağlıklı kontrol grubu ile yaptıkları bir çalışmada, SOCS-1 mRNA ekspresyon seviyesi ve SOCS-1 SNP'inin hastalığın gelişimi ve klinik bulguları ile olan ilişkisi araştırılmıştır. SOCS-1 mRNA ekspresyon seviyesinin, SLE'li hastalarda sağlıklı kontrollere göre anlamlı derecede arttığı tespit edilmiştir. Araştırılan 1335 G/C ve -1478 CA/del polimorfizimlerinin, SLE'nin klinik belirtileri ile ilişkili olabilirken, SLE'nin gelişiminde etkili olmadığı vurgulanmıştır [112]. Japonya'da Inoue ve ark.'nın otoimmün tiroit hastalarıyla yaptıkları bir çalışmada, periferik Th1 oranının Th2 ve Th17'den daha yüksek seviyede olmasından dolayı, hastalığın prognozunda Th1'in önemli olabileceğini varsaymışlardır. SOCS-1 knockout CD4<sup>+</sup> hücrelerinin, şartlar uygun olsa dahi Th2 ya da Th17 yerine Th1'e farklılaşması ise SOCS-1'in Th1 farklılaşması üzerinde inhibitör etkisi olduğunu göstermektedir. Burdan yola çıkılarak SOCS-1 promotöründe bulunan -1478 CA/del polimorfizminin bu farklılaşmadaki rolü araştırma konusunu oluşturmuştur. Hashimoto tiroiti ve Graves hastalarıyla, hastalığın gelişimi ve prognozu üzerine polimorfizmin etkisi sağlıklı kontrol grubunda dahil edildiği bir çalışmada incelenmiştir, ancak hasta ve kontrol grubunda anlamlı farklılık görülmediği için SOCS-1 promotöründe meydana gelen -1478 CA/del polimorfizminin Th1 farklılaşmasına bir etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır [113].

Ülseratif kolit (UC) hastalarının kolon mukozasındaki aşırı inflamasyon sonucu, ekspresyon seviyeleri normalden çok olan IL-4 ve IFN- $\gamma$ 'nın regülasyonunda SOCS-1'in etkili olduğu bilinmektedir [114]. Ülkemizde 2013 yılında yapılan bir çalışmada inflamatuvar bir hastalık olan UC hastalığında SOCS-1 promotör -1478 CA/del polimorfizminin hastalığa yatkınlıkla ilişkisinin var olup olmadığı araştırılmıştır. 52 UC hastası ve 52 sağlıklı kontrol

grubunun dahil edildiği çalışmada SNP'nin tespiti için PZR-RFLP yöntemi kullanılmıştır. Sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirilmiş ve -1478 CA/del polimorfizminin, UC hastalığına yakınlıkta ve hastalığın fenotipik yansımada bir etkisinin bulunmadığı belirtilmiştir [115].

SOCS-1 promotör -1478 CA/del polimorfizmi Tayvan, Japonya ve Türkiye gibi farklı ülkelerde değişik hasta grupları ve sağlıklı kontrol grupları ile çalışılmıştır. Yapılan çalışmalarda sağlıklı kontrol grubunda tespit edilen polimorfizmlerin genotipik dağılımında farklılıklar olduğu görülmüştür. Bu çalışmada kontrol grubunda %40 oranında tespit ettiğimiz "del" allel sıklığı ülkemizden Hartavi ve ark. [115] ve Gül ve ark. [95]'nin yaptıkları çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Ülkemizden bildirilen "del" allel sıklık oranlarının, Tayvan ve Japonya'da tespit edilen popülasyonlarına kıyasla daha yüksek olduğu görülmektedir. Yine bu araştırmalar neticesinde Japon ve Tayvanlı kontrol deneklerinin "CA" allel sıklığı ülkemizde çalışılan kontrol gruplarındaki CA alleli sıklığından önemli derecede yüksek olduğu görülmektedir. Bu bulgular bize SOCS-1 genotip dağılımında etnik ve coğrafik farklılıkların olabileceğini göstermektedir.

Chan ve ark.'nın Tayvan'da 181 romatoid artritli hasta ve 96 sağlıklı kontrol grubu ile yaptıkları bir çalışmada; SOCS-1 geninde 1335 G/C polimorfizminin varlığını tespit etmek amacıyla PZR-RFLP yöntemini kullanmışlardır. Her iki grupta da G allelinin bulunmadığını saptamışlardır. Romatoid artrit ile SOCS-1 geni ekson2'de bulunan 1335 G/C polimorfizmi arasında ilişki bulunamaması bizim çalışmamızla benzerlik göstermektedir [91].

Polonya'da idiyopatik nefrotik sendrom (İNS)'lu 71 hasta ve 30 sağlıklı kontrol grubu ile yapılan bir çalışmada SOCS-1, SOCS-3 ve SOCS5 genlerinde bulunan çeşitli polimorfizmlerin hastalığın tedavisinde etkin olan steroid yanıtıyla ilişkisi araştırılmıştır. İnflamatuar etkileri de olan sitokinlerin antijen-spesifik immün yanıtı ve glomerül hasarını başlattığı düşünülmektedir. Sanger dizileme yöntemi kullanılarak yapılan araştırmada 1335 G/C polimorfizmi çalışılmış olup SOCS gen bölgelerinde bulunan polimorfizimlerin allel ve genotip dağılımları bakımından kontrol ve hasta grubunda önemli bir farklılık gözlenmezken, steroid dirençli grupta 1335 G/C SNP'de C allelinin oranı daha yüksek bulunmuştur [116].

İnflamatuar hastalıklarda önemli rol oynayan, pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar sitokinler arasındaki dengenin korunmasında etkin olan SOCS proteinleri, sitokinler arasındaki bu dengenin hücresel düzeyde sağlanmasında görevlidir. TB'ye yakınlık ile SOCS-1 gen polimorfizimleri arasındaki ilişkiyi araştırdığımız bu tez çalışmasında, SOCS-1 promotör bölgesinde bulunan ve fonksiyonel etkinliği tespit edilmiş olan -1478 CA/del SNP'si ve ekson2 bölgesinde bulunan 1335 G/C SNP'nin varlığı araştırılmıştır. Sonuç olarak hastalığa yakınlıkla bu SNP'lerin arasında anlamlı bir ilişkisi tespit edilememiştir.



Yaptığımız literatür çalışmasına göre; daha önce TB'li hastalarda yapılmış, SOCS-1 gen polimorfizmiyle ilişkili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bizim çalışmamız bu anlamda yapılmış ilk çalışma olma özelliğini göstermektedir.



## 5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

- ✓ TB küresel bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir ve alınan önlemlere rağmen halen ölüm oranı oldukça yüksektir. Bu çalışmada, TB'li hasta ve sağlıklı kontrol grubu bireylerinde SOCS-1 -1478 CA/del (rs33989964) ve 1335 G/C (rs 11549428) SNP lerinin hastalığa olan yakınlıkla ilişkisi araştırılmıştır.

Bu araştırma sonucunda;

- ✓ **Sonuç 1:** Çalışılan hasta ve kontrol grubunda -1478 CA/del SNP'si için genotip dağılımı ve allel sıklığı bakımından istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı tespit edilmiştir.
- ✓ **Sonuç 2:** Araştırılan 1335 G/C SNP'inde ise hasta ve kontrol grubuna ait bütün sonuçlarda "C" allel varlığı tespit edilmiş olup "G" alleleline rastlanılmamıştır.
- ✓ **Sonuç 3:** Bu çalışmadaki sağlıklı kontrol deneklerinin "CA" allel sıklığının Japon ve Tayvan'lı kontrol deneklerinin "CA" allel sıklığından önemli dercede düşük olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar, SOCS-1 genotip dağılımında etnik ve coğrafik farklılıkların olabileceğini göstermektedir.
- ✓ **Öneri 1:** TB enfeksiyonun ilerlemesinde konağa ait genetik faktörler, basilin virülansı ve genetiği, çevre koşulları gibi faktörler etkileşim halindedir. Bu nedenle hastalığa yakınlıkla veya dirençle ilişkili olabilecek konak ve basil genetik faktörlerinin araştırılması gerekmektedir.
- ✓ **Öneri 2:** Hasta grubunun ve kontrol grubunun genişletilerek, SOCS-1 geninde ve hatta SOCS ailesinin diğer üyelerinde tespit edilen anlamlı polimorfizmlerin araştırılması, aktif hastalarda gen ekspresyon seviyelerinin yanı sıra sitokin seviyelerinin de belirlenmesi gerekmektedir.

Bu tez çalışmasıyla, SOCS-1 Tek Nükleotit Polimorfizmi-TB arasındaki ilişki ilk kez araştırılmış olup ileride yapılacak çalışmalar için literatüre katkı sağlamasının yanında, farmakogenetik çalışmalarda ışık tutacağı düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- [1]. Gagneux, S. (2012). Host-pathogen coevolution in human tuberculosis. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 367(1590), 850-859.
- [2]. WHO Fact sheets on tuberculosis - World Health Organization 5 Ekim 2018 [https://www.who.int/TB/publications/factsheet\\_global.pdf](https://www.who.int/TB/publications/factsheet_global.pdf) adresinden erişildi.
- [3]. Hoal, E. G. (2002). Human genetic susceptibility to tuberculosis and other mycobacterial diseases. *IUBMB life*, 53(4-5), 225-229.
- [4]. Alisaac, A. (2018). *Understanding functional mechanisms of genetic susceptibility to mycobacterial infection* (Doctoral dissertation, University of Cambridge).
- [5]. O'Shea, J. J., Gadina, M., Siegel, R. M. (2019). Cytokines and cytokine receptors. In *Clinical Immunology* (pp. 127-155). Content Repository Only.
- [6]. Ayakannu, R., Abdullah, N. A., Radhakrishnan, A. K., Raj, V. L., Liam, C. K. (2019). Relationship between various cytokines implicated in asthma. *Human Immunology*.
- [7]. Domingo-Gonzalez, R., Prince, O., Cooper, A., Khader, S. (2016). Cytokines and chemokines in Mycobacterium tuberculosis infection. *Microbiology spectrum*, 4(5).
- [8]. Rajaram, M. V., Ni, B., Dodd, C. E., Schlesinger, L. S. (2014, December). Macrophage immunoregulatory pathways in tuberculosis. In *Seminars in immunology* (Vol. 26, No. 6, pp. 471-485). Academic Press.
- [9]. Lee, S. W., Liu, C. W., Hu, J. Y., Chiang, L. M., Chuu, C. P., Wu, L. S. H., Kao, Y. H. (2017). Suppressors of cytokine signaling in tuberculosis. *PloS one*, 12(4), e0176377.
- [10]. Yang, S., Li, F., Jia, S., Zhang, K., Jiang, W., Shang, Y., Chang, K., Deng, S., Chen, M. (2015). Early secreted antigen ESAT-6 of Mycobacterium tuberculosis promotes apoptosis of macrophages via targeting the microRNA155-SOCS-1 interaction. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 35(4), 1276-1288.
- [11]. Alexander, W. S., Starr, R., Fenner, J. E., Scott, C. L., Handman, E., Sprigg, N. S., Corbin, J. E., Cornish, A. L., Darwiche, R., Owczarek, C. M., Kay, T. W., Nikola, N.A., Hertzog, P. J., Metcalf, D. (1999). SOCS-1 is a critical inhibitor of interferon  $\gamma$  signaling and prevents the potentially fatal neonatal actions of this cytokine. *Cell*, 98(5), 597-608.
- [12]. Sun, L., Jin, Y. Q., Shen, C., Qi, H., Chu, P., Yin, Q. Q., Li, J. G., Tian, J. L., Jiao W., Xiao, J., Shen, A. D. (2014). Genetic contribution of CISH promoter polymorphisms to susceptibility to tuberculosis in Chinese children. *PloS one*, 9(3), e92020.
- [13]. Marine, J. C., Topham, D. J., McKay, C., Wang, D., Parganas, E., Stravopodis, D., Yoshimura A., Ihle, J. N. (1999). SOCS-1 deficiency causes a lymphocyte-dependent perinatal lethality. *Cell*, 98(5), 609-616.
- [14]. Barış İ., (2003). Çağlar Boyu Tüberküloz, 21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, Samsun.
- [15]. Seber, E. (2010). Tüberkülozun dünü. *ANKEM Derg*, 24, 52-60.

- [16]. Köksal F. (2005). Tüberküloz basilinein Kaynağı ve Evrimi, *IV. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Uygulamalı Kurs Kitabı*.
- [17]. Palomino, J. C., Leão, S. C., Ritacco, V. (2007). Tuberculosis 2007; from basic science to patient care.
- [18]. Ülger M., (2011). *Tüberküloz Hastalarında Sitokin Gen Polimorfizmi Ve Genetik Yatkınlık*, Doktora Tezi, Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Mersin.
- [19]. Barberis, I., Bragazzi, N. L., Galluzzo, L., Martini, M. (2017). The history of tuberculosis: from the first historical records to the isolation of Koch's bacillus. *Journal of preventive medicine and hygiene*, 58(1), E9.
- [20]. Ahmad, S. (2010). Pathogenesis, immunology, and diagnosis of latent Mycobacterium tuberculosis infection. *Clinical and Developmental Immunology*, 2011.
- [21]. Çevirme, A. (2017). Dünyada ve Türkiye'de Tüberkülozun Önlenmesi ve Kontrolü ile İlgili Yasalar. *Türkiye Klinikleri Journal of Internal Medicine Nursing-Special Topics*, 3(1), 1-6.
- [22]. MacDonald, E. M., Izzo, A. A. (2015). Tuberculosis Vaccine Development—Its History and Future Directions. In *Tuberculosis-Expanding Knowledge*. IntechOpen.
- [23]. Karahan Z.C., Akar N., (2002). Tüberküloza Genetik Yatkınlık. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası* Cilt 55, Sayı 2, 151-162
- [24]. World Healty Organization. Tuberculosis Fact Sheet, 2018, *World Healty Organization*, 5 Ekim 2018 tarihinde <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tuberculosis> adresinden erişim sağlandı.
- [25]. Comas, I., Gagneux, S. (2009). The past and future of tuberculosis research. *PLoS pathogens*, 5(10), e1000600.
- [26]. WHO Global Tuberculosis Report 2018 1 Aralık 2018 tarihinde <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/274453/9789241565646-eng.pdf> adresinden erişim sağlandı.
- [27]. World Healty Organization. Tuberculosis Facts in Picture, 2018, *World Healty Organization*, 5 Temmuz 2018 tarihinde <http://www.who.int/news-room/facts-in-pictures/detail/tuberculosis>. adresinden erişildi.
- [28]. Lönnroth, K., Raviglione, M. (2016). The WHO's new End TB Strategy in the post-2015 era of the Sustainable Development Goals. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 110(3), 148-150.
- [29]. Özkan, S.A., (2007). Dünyada ve Ülkemizde Tüberküloz Kontrolü ve Epidemiyolojisinde Gelişmeler. *9. Ulusal İç Hastalıkları Kongresi*.
- [30]. Öner, C., Binalı, Ç. (2014). Birinci basamakta tüberküloz kontrolü: mevcut durum ve öneriler. *TJFMPC*, 8(1), 3-7..
- [31]. World Healty Organization 2018 Tuberculosis country profiles 1 Aralık 2018 tarihinde <https://www.who.int/TB/country/data/profiles/en/> adresinden erişildi.

- [32]. Türkiye’de Verem Savaşı Raporu 2017 1 Aralık 2018 tarihinde <https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/haberler/verem-savas-raporu-2016> 2017/Turkiyede\_Verem\_Savasi\_2017\_Raporu.pdf adresinden erişildi.
- [33]. Kılıçaslan Z. Tüberkülozda Bulaşma, Patogenez Ve Tanı. 1 Aralık 2018 tarihinde <http://file.toraks.org.tr/TORAKSFD23NJKL4NJ4H3BG3IH/kisokulu-ppt-pdf/zeki.pdf> adresinden erişildi.
- [34]. Öğretensoy M., (2010). Tüberkülozda Bulaşma/ Tüberküloz. 11. Baskı Toraks Kitapları; 62-65.
- [35]. Sevim T., (2018). *Tüberküloz Patogenezi ve Doğal Seyir*. 1 Aralık 2018 tarihinde <http://www.klinikgelisim.org.tr/eskisayi/cilt20sayi1/patogenez.pdf> adresinden erişildi.
- [36]. Avkan Oğuz V., (2003). Tüberküloz Basilinin Bulaş Yolları ve Konaktaki Seyri, *21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, Samsun*.
- [37]. Öztürk R., (2003). Tüberkülozda Doğal Direnç ve Risk Faktörleri, *21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, Samsun*.
- [38]. Turhan Ö, Akın L. *Dünya Tüberküloz Günü (24 Mart) HÜTF Halk Sağlığı AD Toplum İçin Bilgilendirme Serisi-* 25 Temmuz 2017 tarihinde <http://www.halksagligi.hacettepe.edu.tr/> adresinden erişildi.
- [39]. <https://www.cdc.gov/TB/topic/basics/risk.htm> erişim tarihi: 9.8.2018
- [40]. Piergallini, T. J., Turner, J. (2018). Tuberculosis in the elderly: Why inflammation matters. *Experimental gerontology, 105*, 32-39.
- [41]. Aslan R., (2015). *Tüberküloz Tanısında Mikroskopi, Kültür Ve Moleküler Yöntemlerin Karşılaştırılması*. Uzmanlık Tezi, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Elazığ.
- [42]. Okutan O., (2003). Yetişkin Çağda Akciğer Tüberkülozu, *21. Yüzyılda Tüberküloz Sempozyumu ve II. Tüberküloz Laboratuvar Tanı Yöntemleri Kursu, Samsun*,
- [43]. Öner Eyüboğlu F., (2010). Tüberküloz Patogenezi/ Tüberküloz. 11. Baskı Toraks Kitapları; 66-70
- [44]. Van Crevel, R., Ottenhoff, T. H., Van Der Meer, J. W. (2002). Innate immunity to Mycobacterium tuberculosis. *Clinical microbiology reviews, 15*(2), 294-309.
- [45]. Stead, W. W., Senner, J. W., Reddick, W. T., Lofgren, J. P. (1990). Racial differences in susceptibility to infection by Mycobacterium tuberculosis. *New England Journal of Medicine, 322*(7), 422-427.
- [46]. Axelrod, S., Oschkinat, H., Enders, J., Schlegel, B., Brinkmann, V., Kaufmann, S. H., Haas, A., Schaible, U. E. (2008). Delay of phagosome maturation by a mycobacterial lipid is reversed by nitric oxide. *Cellular microbiology, 10*(7), 1530-1545.
- [47]. Wawrocki, S., Druszczynska, M. (2017). Inflammasomes in Mycobacterium tuberculosis-Driven Immunity. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology, 2017*.

- [48]. Özbal, Y. (2006). Immunity of tuberculosis. *Erciyes Medical Journal*, 28(1), 25-34.
- [49]. Çelik U., (2009). *Tüberküloz Teması Çocuklarda Tüberküloz Enfeksiyonu Tanısında Gamma İnterferon ve Tüberkülin Cilt Testlerinin Etkinliğinin Karşılaştırılması*. Tıpta Yandal Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Enfeksiyon Bilim Dalı, Adana.
- [50]. Van Rie, A., Warren, R., Richardson, M., Victor, T. C., Gie, R. P., Enarson, D. A., Beyers, N. P.D., van Helden, P. D. (1999). Exogenous reinfection as a cause of recurrent tuberculosis after curative treatment. *New England Journal of Medicine*, 341(16), 1174-1179.
- [51]. Ernst, J. D. (2012). The immunological life cycle of tuberculosis. *Nature Reviews Immunology*, 12(8), 581..
- [52]. Bozok T., (2015). *Pulmoner Tüberkülozlu Hastalardan İzole Edilen Mycobacterium Tuberculosis Suşlarında Moksifloksasin Direncinin Epidemiyolojik Özellikleri Ve Moleküler Mekanizmalarının Araştırılması*. Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Adana.
- [53]. Cooper, A. M. (2009). Cell-mediated immune responses in tuberculosis. *Annual review of immunology*, 27, 393-422.
- [54]. Refai, A., Gritli, S., Barbouche, M. R., Essafi, M. (2018). Mycobacterium tuberculosis virulent factor ESAT-6 drives macrophage differentiation toward the pro-inflammatory M1 phenotype and subsequently switches it to the anti-inflammatory M2 phenotype. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 8.
- [55]. Eyüboğlu, F. Ö. Tüberküloz İmmünolojisi. *Konuk Editörler*, . (2010) 11. Baskı *Toraks Kitapları*,; 71-78
- [56]. Stenger, S., Modlin, R. L. (1999). T cell mediated immunity to Mycobacterium tuberculosis. *Current opinion in microbiology*, 2(1), 89-93.
- [57]. Yaman, M. (1999). TÜBERKÜLOZ PATOGENEZİ. *İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Erişkin ve Çocukta Tüberküloz Sempozyumu*, 15-20.
- [58]. Riley L.W., <https://www.uptodate.com/contents/tuberculosis-natural-history-microbiology-and-pathogenesis>
- [59]. Akdoğan, M., Yöntem, M. (2018). Sitokinler. *Online Türk Sağlık Bilimleri Dergisi*, 3(1), 36-45.
- [60]. Yoshimura, A., Suzuki, M., Sakaguchi, R., Hanada, T., Yasukawa, H. (2012). SOCS, inflammation, and autoimmunity. *Frontiers in immunology*, 3, 20.
- [61]. Linossi, E. M., Babon, J. J., Hilton, D. J., Nicholson, S. E. (2013). Suppression of cytokine signaling: the SOCS perspective. *Cytokine & growth factor reviews*, 24(3), 241-248.
- [62]. Eyles, J. L., Metcalf, D., Grusby, M. J., Hilton, D. J., Starr, R. (2002). Negative regulation of interleukin-12 signaling by suppressor of cytokine signaling-1. *Journal of Biological Chemistry*, 277(46), 43735-43740.
- [63]. Yılmaz, Ö., Turgay, N., (2009). Sitokin İlişkili Hücre İçi Sinyal İletimi ve Paraziter Enfeksiyonlardaki Önemi. *Türkiye Parazitoloji Dergisi*, 33 (4): 301- 306.

- [64]. Dorhoi, A., Iannaccone, M., Farinacci, M., Faé, K. C., Schreiber, J., Moura-Alves, P., Nouailles, G., Mollenkopf, Hans. J., Oberbeck-Müller, D., Heinemann, E., Hahnke, K., Löwe, D., Del Nonno, F., Goletti, D., Capparelli, R., Kaufmann S. H.E. (2013). MicroRNA-223 controls susceptibility to tuberculosis by regulating lung neutrophil recruitment. *The Journal of clinical investigation*, 123(11), 4836-4848.
- [65]. Etna, M. P., Giacomini, E., Severa, M., Coccia, E. M. (2014, December). Pro-and anti-inflammatory cytokines in tuberculosis: a two-edged sword in TB pathogenesis. In *Seminars in immunology* (Vol. 26, No. 6, pp. 543-551). Academic Press.
- [66]. Mangangcha, I. R., Jha, P., Arora, K., Mukerji, M., Banavaliker, J. N., Brahmachari, V., Indian Genome Variation Consortium., Bose, M. (2011). Differential serum cytokine levels are associated with cytokine gene polymorphisms in north Indians with active pulmonary tuberculosis. *Infection, Genetics and Evolution*, 11(5), 1015-1022.
- [67]. Korbel, D. S., Schneider, B. E., Schaible, U. E. (2008). Innate immunity in tuberculosis: myths and truth. *Microbes and Infection*, 10(9), 995-1004.
- [68]. Kaufmann, S. H. (2002). Protection against tuberculosis: cytokines, T cells, and macrophages. *Annals of the rheumatic diseases*, 61(suppl 2), ii54-ii58.
- [69]. Akdis, M., Burgler, S., Cramer, R., Eiwegger, T., Fujita, H., Gomez, E., Klunker S, Meyer N, O'Mahony L, Palomares O., Rhyner, C., Ouaked N, Schaffartzik A, Van De Veen W, Zeller S, Zimmermann M, Akdis CA. (2011). Interleukins, from 1 to 37, and interferon- $\gamma$ : receptors, functions, and roles in diseases. *Journal of allergy and clinical immunology*, 127(3), 701-721.
- [70]. Sugawara, I., Yamada, H., Kaneko, H., Mizuno, S., Takeda, K., Akira, S. (1999). Role of interleukin-18 (IL-18) in mycobacterial infection in IL-18-gene-disrupted mice. *Infection and Immunity*, 67(5), 2585-2589.
- [71]. Erer O.F. (2010). Tüberküloz plörezi patofizyolojisi. Türk Toraks Derneği/Plevra Bülteni; Cilt4/Sayı2
- [72]. Rawlings, J. S., Rosler, K. M., Harrison, D. A. (2004). The JAK/STAT signaling pathway. *Journal of cell science*, 117(8), 1281-1283.
- [73]. Carow, B., Qun Ye, X., Gavier-Widén, D., Bhujra, S., Oehlmann, W., Singh, M., Sköld, M., Ignatowicz, L., Yoshimura, A., Wigzell H., Rottenberg, M. E. (2011). Silencing suppressor of cytokine signaling-1 (SOCS-1) in macrophages improves Mycobacterium tuberculosis control in an interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )-dependent manner. *Journal of Biological Chemistry*, 286(30), 26873-26887.
- [74]. Hasdemir, E. (2014). *Polisitemia vera olgularında JAK2 V617F mutasyon durumunun plazma viskozitesi ile ilişkisinin araştırılması.*, Uzmanlık Tezi, Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara 2014.
- [75]. Yoshimura, A., Ito, M., Chikuma, S., Akanuma, T., Nakatsukasa, H. (2018). Negative regulation of cytokine signaling in immunity. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 10(7), a028571.
- [76]. Sobhkhez, M. (2014). *Studies of JAK/STAT signaling in Atlantic salmon.*, PhD, Norwegian College of Fishery Science, Norway.

- [77]. Doğru, G., Ay, M. E., Çevik, K., Ay, Ö. İ. (2017). Miyeloproliferatif Neoplazmlara Moleküler Genetik Yaklaşım. *Nobel Medicus Journal*, 13(2).
- [78]. Jatiani, S. S., Baker, S. J., Silverman, L. R., Reddy, E. P. (2010). Jak/STAT pathways in cytokine signaling and myeloproliferative disorders: approaches for targeted therapies. *Genes & cancer*, 1(10), 979-993.
- [79]. Stabile, H., Scarno, G., Fionda, C., Gismondi, A., Santoni, A., Gadina, M., Sciumè, G. (2018). JAK/STAT signaling in regulation of innate lymphoid cells: The gods before the guardians. *Immunological reviews*, 286(1), 148-159.
- [80]. <https://mpnforum.com/the-secrets-of-jak2-inhibition/jak-stat-pathway-2/> erişim tarihi: 28.6.2019
- [81]. Piessevaux, J., Lavens, D., Peelman, F., Tavernier, J. (2008). The many faces of the SOCS box. *Cytokine & growth factor reviews*, 19(5-6), 371-381.
- [82]. Delgado-Ortega, M., Marc, D., Dupont, J., Trapp, S., Berri, M., Meurens, F. (2013). SOCS proteins in infectious diseases of mammals. *Veterinary immunology and immunopathology*, 151(1-2), 1-19.
- [83]. Croker, B. A., Kiu, H., Nicholson, S. E. (2008, August). SOCS regulation of the JAK/STAT signalling pathway. In *Seminars in cell & developmental biology* (Vol. 19, No. 4, pp. 414-422). Academic Press.
- [84]. Srivastava, V., Vashishta, M., Gupta, S., Singla, R., Singla, N., Behera, D., Natarajan, K. (2011). Suppressors of cytokine signaling inhibit effector T cell responses during Mycobacterium tuberculosis infection. *Immunology and cell biology*, 89(7), 786-791.
- [85] Shrivastava, M., Alam, S., Dwivedi, L. K. (2013). Hijack and exploitation of Host SOCS protein: an immunosuppressive deception of the viruses. *South Asian J Exp. Boil*, 3(6), 314-318.
- [86]. Zhou, D., Chen, L., Yang, K., Jiang, H., Xu, W., Luan, J. (2017). SOCS molecules: the growing players in macrophage polarization and function. *Oncotarget*, 8(36), 60710.
- [87]. O'sullivan, L. A., Liongue, C., Lewis, R. S., Stephenson, S. E., Ward, A. C. (2007). Cytokine receptor signaling through the Jak-Stat-Socs pathway in disease. *Molecular immunology*, 44(10), 2497-2506.
- [88]. Pirzada, A. (2014). *Inherited predisposition to idiopathic pulmonary fibrosis in the Newfoundland population* (Doctoral dissertation, Memorial University of Newfoundland).
- [89]. Oral, H. B. (2007). Sitokin Sinyal Süpresörleri ve Hastalıklarla İlişkisi. *Turkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Sciences*, 3(43), 26-32.
- [90]. Chan, H. C., Ke, L. Y., Liu, C. C., Chang, L. L., Tsai, W. C., Liu, H. W., Yen, J. H. (2010). Increased expression of suppressor of cytokine signaling 1 mRNA in patients with rheumatoid arthritis. *The Kaohsiung journal of medical sciences*, 26(6), 290-298.
- [91]. Yamana, J., Yamamura, M., Okamoto, A., Aita, T., Iwahashi, M., Sunahori, K., Makino, H. (2004). Resistance to IL-10 inhibition of interferon gamma production and expression of suppressor of cytokine signaling 1 in CD4+ T cells from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*, 6(6), R567.



- [92]. Melzner I, Bucur AJ, Bruderlein S, et al. Biallelic mutation of SOCS-1 impairs JAK2 degradation and sustains phospho-JAK2 action in the MedB-1 mediastinal lymphoma line. *Blood* 2005; 105: 2535–2542.
- [93]. Ulusal Tüberküloz Tanı Rehberi (2014) T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Başkanlığı Mikrobiyoloji Referans Laboratuvarları Daire Başkanlığı.
- [94]. Arora, J., Kumar, G., Verma, A. K., Bhalla, M., Sarin, R., Myneedu, V. P. (2015). Utility of MPT64 antigen detection for rapid confirmation of Mycobacterium tuberculosis complex. *Journal of global infectious diseases*, 7(2), 66.
- [95]. Oz Gul, O., Cander, S., Gul, C. B., Budak, F., Oral, B., Ersoy, C. (2017). Cytokine signal suppressor (SOCS) 1-1478 CA/del gene polymorphism in Turkish patients with polycystic ovary syndrome. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 37(7), 896-901.
- [96]. Khalilullah, S. A., Harapan, H., Hasan, N. A., Winardi, W., Ichsan, I., Mulyadi, M. (2014). Host genome polymorphisms and tuberculosis infection: What we have to say?. *Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis*, 63(1), 173-185.
- [97]. Masood, K. I., Rottenberg, M. E., Salahuddin, N., Irfan, M., Rao, N., Carow, B., Islam M., Hussain R., Hasan, Z. (2013). Expression of M. tuberculosis-induced suppressor of cytokine signaling (SOCS) 1, SOCS-3, FoxP3 and secretion of IL-6 associates with differing clinical severity of tuberculosis. *BMC infectious diseases*, 13(1), 13.
- [98]. Lin, C. J., Lee, S. W., Liu, C. W., Chuu, C. P., Kao, Y. H., Wu, L. S. H. (2019). Polymorphisms of suppressor of cytokine signaling-3 associated with susceptibility to tuberculosis among Han Taiwanese. *Cytokine*, 114, 11-17.
- [99]. Yoshimura, A., Ohkubo, T., Kiguchi, T., Jenkins, N. A., Gilbert, D. J., Copeland, N. G., Miyajima, A. (1995). A novel cytokine-inducible gene CIS encodes an SH2-containing protein that binds to tyrosine-phosphorylated interleukin 3 and erythropoietin receptors. *The EMBO journal*, 14(12), 2816-2826.
- [100]. Li, S., Chen, S., Xu, X., Sundstedt, A., Paulsson, K. M., Anderson, P., Karlsson, S., Sjögren, H. O., Wang, P. (2000). Cytokine-induced Src homology 2 protein (CIS) promotes T cell receptor-mediated proliferation and prolongs survival of activated T cells. *Journal of Experimental Medicine*, 191(6), 985-994.
- [101]. Zhao, L., Chu, H., Xu, X., Yue, J., Li, H., Wang, M. (2014). Association between single-nucleotide polymorphism in CISH gene and susceptibility to tuberculosis in Chinese Han population. *Cell biochemistry and biophysics*, 68(3), 529-534.
- [102]. Periasamy, S., Dhiman, R., Barnes, P. F., Paidipally, P., Tvinnereim, A., Bandaru, A., Valluri, V. I., Vankayalapati, R. (2011). Programmed death 1 and cytokine inducible SH2-containing protein dependent expansion of regulatory T cells upon stimulation With Mycobacterium tuberculosis. *Journal of Infectious Diseases*, 203(9), 1256-1263.
- [103]. Ji, L. D., Xu, W. N., Chai, P. F., Zheng, W., Qian, H. X., Xu, J. (2014). Polymorphisms in the CISH gene are associated with susceptibility to tuberculosis in the Chinese Han population. *Infection, Genetics and Evolution*, 28, 240-244.

- [104]. Chen, C., Zhao, Q., Hu, Y., Shao, Y., Li, G., Zhu, L., Lu, W., Xu, B. (2016). A rare variant at 11p13 is associated with tuberculosis susceptibility in the Han Chinese population. *Scientific reports*, 6, 24016.
- [105]. Guidry, T. V., Hunter Jr, R. L., Actor, J. K. (2007). Mycobacterial glycolipid trehalose 6, 6'-dimycolate-induced hypersensitive granulomas: contribution of CD4+ lymphocytes. *Microbiology (Reading, England)*, 153(Pt 10), 3360.
- [106]. Imai, K., Kurita-Ochiai, T., Ochiai, K. (2003). Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Gueérin infection promotes SOCS induction and inhibits IFN- $\gamma$ -stimulated JAK/STAT signaling in J774 macrophages. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 39(2), 173-180.
- [107]. Harada, M., Nakashima, K., Hirota, T., Shimizu, M., Doi, S., Fujita, K., Shirakawa, T., Enomoto T., Yoshikawa, M., Moriyama, H., Matsumoto, K., Saito, H., Suzuki, Y., Nakamura, Y., Tamari, M. (2007). Functional polymorphism in the suppressor of cytokine signaling 1 gene associated with adult asthma. *American journal of respiratory cell and molecular biology*, 36(4), 491-496.
- [108]. Nicol, A. F., Nuovo, G. J., Coelho, J. M. C., Rolla, V. C., Horn, C. (2008). SOCS in situ expression in tuberculous lymphadenitis in an endemic area. *Experimental and molecular pathology*, 84(3), 240-244.
- [109]. Kahn, S. E., Hull, R. L., Utzschneider, K. M. (2006). Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*, 444(7121), 840.
- [110]. Guedes, R. A., Planello, A. C., Andia, D. C., De Oliveira, N. F., de Souza, A. P. (2015). Association of SOCS-1- 820 (rs33977706) gene polymorphism with chronic periodontitis: A case-control study in Brazilians. *Meta gene*, 5, 124-128.
- [111]. Lahita, R. G. (1999). The role of sex hormones in systemic lupus erythematosus. *Current opinion in rheumatology*, 11(5), 352-356.
- [112]. Chan, H. C., Ke, L. Y., Chang, L. L., Liu, C. C., Hung, Y. H., Lin, C. H., Li R.N., Tsai WC., Liu HW., Yen, J. H. (2010). Suppressor of cytokine signaling 1 gene expression and polymorphisms in systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 19(6), 696-702.
- [113]. Inoue, N., Watanabe, M., Nakaguchi, A., Ueda, D., Kawaguti, H., Hidaka, Y., Iwatani, Y. (2017). Functional polymorphisms affecting Th1 differentiation are associated with the severity of autoimmune thyroid diseases. *Endocrine journal*, 64(7), 695-703.
- [114]. Piganis, R. A., De Weerd, N. A., Gould, J. A., Schindler, C. W., Mansell, A., Nicholson, S. E., Hertzog, P. J. (2011). Suppressor of cytokine signaling (SOCS) 1 inhibits type I interferon (IFN) signaling via the interferon  $\alpha$  receptor (IFNAR1)-associated tyrosine kinase Tyk2. *Journal of biological chemistry*, 286(39), 33811-33818.
- [115]. Hartavi, M., Nak, S. G., Oral, B., Deligönül, A. (2014). No association between the SOCS-1-1478CA/del polymorphism and ulcerative colitis in Turkish subjects. *Molecular biology reports*, 41(10), 6505-6508.
- [116]. Zaorska, K., Ostalska-Nowicka, D., Kempisty, B., Nowicki, M., Zabel, M. (2014). Association of SOCS-1, SOCS-3 and SOCS5 polymorphisms and steroid response in children with idiopathic nephrotic syndrome. *Journal of Nephrology and Renal Transplantation*, 6(1), 13-26.



## ÖZGEÇMİŞ

**Adı ve Soyadı** :Leyla ERSOY

**Doğum Tarihi** :19.07.1982

**E-mail** :leylaersoy82@gmail.com

**Öğrenim Durumu** :

Derece	Bölüm/Program	Üniversite	Yıl
Lisans	Biyoloji	Hacettepe Üniveritesi	1999-2004
Yüksek Lisans	Biyoloji	Mersin Üniveritesi	2016-2019
Doktora			

**Görevler :**

<b>Görev Ünvanı</b>	<b>Görev Yeri</b>	<b>Yıl</b>
Öğretim Görevlisi	Mersin Üniversitesi	2009-devam ediyor

**ESERLER (Makaleler ve Bildiriler)**

1. Ülger M., Direkel Ş., Çorabatır Dirim C., Ersoy L., Tezcan Ülger S., Aslan G., (2015). Derin dondurucuda bir iki ve üç yıl saklanan örneklerde MTBC canlı kalma oranları. 7. Ulusal Mikobakteri Sempozyumu, 172-172. (/)(Yayın No:1890735)

