

T. C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**OBSTRÜKTİF UYKU APNE SENDROMLU HASTALARDA BETA2
ADRENERJİK RESEPTÖR GEN POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

İlknur ÇELEBİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Yrd. Doç. Dr. İlhami GÖK

HAZİRAN-2013

KARS

“Bu tez çalışması FEF-52 nolu proje ile KAÜ/ BAP tarafından desteklenmiştir.”

T. C.

KAFKAS ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**OBSTRÜKTİF UYKU APNE SENDROMLU HASTALARDA BETA2
ADRENERJİK RESEPTÖR GEN POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

İlknur ÇELEBİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. İlhami GÖK

HAZİRAN-2013

KARS

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi İlknur Çelebi'nin Yrd. Doç. Dr. İlhami GÖK'ün danışmanlığında yüksek lisans tezi olarak hazırladığı "Obstrüktif Uyku Apne Sendromlu Hastalarda Beta2 Adrenerjik Reseptör Gen Polimorfizmlerinin Araştırılması" adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy..*birliği*...ile kabul edilmiştir.

25./.6./2013

Adı ve Soyadı

İmza

Başkan: Yrd. Doç. Dr. İlhami GÖK

Üye: Doç. Dr. Mehmet Ali KIRPIK

Üye: Yrd. Doç. Dr. Evren KOÇ

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun/...../2013 gün ve/

..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

.....

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim dalında yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır.

Çalışmada obstrüktif uyku apne sendromu tanısı almış hastalarda beta-2 adrenerjik reseptör (ADR β 2) gen polimorfizmlerinin bu hastalıkla ilişkisi araştırmak amaçlandı. Bu çalışmanın ülkemiz ve bölgemiz açısından ilk olacağını düşünmekteyiz.

Eğitimim süresince bilgi ve tecrübesinden yararlandığım, titiz, disiplinli ve yenilikçi çalışmalarından dolayı yanında çalışmaktan onur duyduğum, hiç bir zaman sabır, özveri, destek ve hoşgörüsünü benden esirgemeyen sevgi ve saygı duyduğum değerli danışman hocam Yrd. Doç. Dr. İlhami GÖK'e, tanıların konulması ve örneklerin alınmasında yardımlarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Nergis HÜSEYİNOĞLU' na teşekkür ederim. Çalışmalarım esnasında bana her türlü desteği veren, değerli hocalarım Yrd. Doç. Dr. Cem ÖZİÇ ve Arş. Gör. Sevcan MERCAN'a, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum ve uyum içinde çalıştığım değerli arkadaşlarım Özkan ÖZTAŞ, Vasfiye ESEN ve Meryem BADAY'a, bana her konuda destek olup sevgileri ve varlıklarıyla güven veren, yetişmemde huzurlu ve sevgi dolu bir ortam sağlayan çok sevdiğim aileme, en içten teşekkürlerimi sunarım.

Kars-2013

İlknur ÇELEBİ

İÇİNDEKİLER	v
ÖZET	vii
ABSTRACT	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
RESİMLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Uyku	3
2.2 Obstrüktif Uyku Apne Sendromu (OUAS)	4
2.3 OUAS Risk Faktörleri	5
2.4 OUAS'la İlişkili Hastalıklar	6
2.5 OUAS'ta Klinik Bulgular	7
2.6 Genetik Hastalıklar ve OUAS	9
2.7 Adrenerjik Reseptörler	12
2.7.1 Alfa Adrenerjik Reseptör (ADRA) Genleri	13
2.7.2 Beta Adrenerjik Reseptör (ADRB) Genleri	14
2.7.2.1 Beta-1 Adrenerjik Reseptör Geni (ADR β 1)	15
2.7.2.2 Beta-2 Adrenerjik Reseptör Geni (ADR β 2)	15
2.7.2.2.1 Beta-2 Adrenerjik Reseptörü Arg16Gly Polimorfizmi	16
2.7.2.2.2 Beta-2 Adrenerjik Reseptörü Gln27Glu polimorfizmi	17
2.7.2.3 Beta-3 Adrenerjik Reseptör Geni (ADR β 3)	18
2.8 Mutasyon Analizlerinde Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler	18

2.8.1 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	18
2.8.2 Restriksiyon Parça Uzunluğu Polimorfizmi (RFLP)	19
3. MATERYAL METOT	20
3.1 Materyal	20
3.1.1 Kontrol ve Çalışma Grubu	20
3.1.2 Kimyasallar ve Gereçler	22
3.1.3 Solüsyonlar	23
3.2 Metot	24
3.2.1 Periferel Kandan DNA İzolasyonu	24
3.2.2 OUAS'lı Hastalarda ve Kontrollerde Polimeraz Zincir Reaksiyonu Yöntemi İle Polimorfizm Analizi	25
3.2.2.1 ADR β 2 Gln27Glu Bölgesi Polimorfizm Analizi	25
3.2.2.2 ADR β 2 Arg16Gly Bölgesi Polimorfizm Analizi	25
3.2.3 Agaroz Jel Elektroforezi	26
3.2.4 Restriksiyon Enzim Kesimi İle Polimorfizm Analizi	26
3.2.4.1 ADR β 2 Gln27Glu Polimorfizm Analizi İçin Restriksiyon Enzim Kesimi	26
3.2.4.2 ADR β 2 Arg16Gly Polimorfizm Analizi İçin Restriksiyon Enzim Kesimi	27
3.2.5 İstatistik Analizi	28
4. BULGULAR	29
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	37
6. KAYNAKLAR	39
7. ÖZGEÇMİŞ	47

ÖZET

Bu çalışma Kars ilinde yaşayan obstrüktif uyku apne sendromlu hastalarda Beta-2 Adrenerjik Reseptör Gen (ADRB2)'inin Arg16Gly ve Gln27Glu polimorfizmlerinin dağılımlarını araştırmak amacıyla yapıldı.

Çalışmamızda uyku laboratuvarında obstrüktif uyku apne tanısı almış 52 hasta ve bu sendrom ile ilişkili olmayan 78 birey incelendi. Polisomnografi sonuçlarına göre obstrüktif uyku apne tanısı almış hastalardan ve kontrollerden tam kan örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinden DNA izolasyonu yapıldı ve izole edilen DNA örneklerinde gen polimorfizmlerini araştırmak amacıyla ilgili bölgeler polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile çoğaltıldı. Çoğaltılan PCR ürünleri polimorfizmleri belirlemek amacıyla restriksiyon enzimleri ile kesildi. Kesilen PCR ürünleri agaroz jel elektroforezinde yürütüldü ve polimorfizm oranları jel resimlerinden yararlanılarak belirlendi.

Sonuç olarak, ADRB2 geni Arg16Gly polimorfik bölgesinin görülme oranı 52 hastadan 18'inde (%35), kontrol gruplarında ise aynı polimorfik bölge 78 kişiden 23'ünde (%30) gözlemlendi. ADRB2 geni Gln27Glu polimorfik bölgesini görülme oranı 52 hastadan 21'inde (%40) kontrol gruplarında ise aynı polimorfik bölge 78 kişiden 28'inde (%35) gözlemlendi. Araştırmamızda hastalar ve kontrol grupları arasındaki polimorfik oranlar karşılaştırıldığında istatistiksel bir farkın olmadığı belirlendi. Genomik düzeydeki bulgularımızın klinikte obstrüktif uyku apne sendromu tanısında şimdilik önemli bir katkı sağlayamayacağı görüşündeyiz. Ancak hastalarda vücut kitle indeksi 30'dan büyük olanlar dikkate alındığında Arg16Gly ve Gln27Glu polimorfizmlerinin dağılımlarının obeziteyi tetikleyebileceğini düşünmekteyiz. Obstrüktif uyku apne sendromu için hastalık parametreleri değiştirilerek ve daha fazla polimorfik bölgeler genomik düzeyde incelenirse farklı sonuçlara ulaşılabileceği kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: Obstrüktif Uyku Apnesi, Polisomnografi, ADRB2, PCR, Restriksiyon Parça Uzunluğu Polimorfizmi (RFLP), Kars ili, Vücut kitle indeksi

ABSTRACT

This study was performed to determine distribution of Arg16Gly and Gln27Glu polymorphisms of Beta-2 Adrenergic Reseptor Gene in patients with obstructive sleep apnea syndrome as well as a control group in Kars.

For this purpose, a total of 52 patients diagnosed with obstructive sleep apnea in sleep laboratory and a total of 78 individuals were not associated with the syndrome as control group were examined. Peripheral blood samples were taken from the patients diagnosed with obstructive sleep apnea by polysomnography results. DNA was extractad from taken blood samples and DNA samples were amplified using PCR. PCR products were digested with restriction enzymes in order to invastigate of gene polymorphisms. Restriction products were gained from agarose gel electrophoresis and polymorphisms was analyzed using gel images.

As a result, Arg16Gly polymorphism was observed in 18 of 52 (%35) patients and in the control group 23 out of 78 people (%30). Gln27Glu polymorphic region was observed in 21 of 52 patients and in the control group 28 out of 78 people for the same polymorphic region. In our study, there is no statistical significance to compared polymorphic frequencies between patient and control groups. Based on the results we are opinion that our genomic findings were not contributed to clinical diagnosis of this syndome. However, we think that the distribution of Arg16Gly ve Gln27Glu polymorphisms could trigger obesity considering patients with a body mass index greater than 30. We concluded that can be reached different results with changing obstructive sleep apnea disease parameters and analyzing more polymorphic regions.

Key words: Obstructive Sleep Apnea, Polysomnografy, ADRB2, PCR, Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP), Kars City, Body mass index.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

1. Simgeler

mM	Milimolar
ml	Mililitre
μ l	Mikrolitre
$^{\circ}$ C	Santigrat derece
%	Yüzde
kb	Kilo baz
β	Beta
α	Alfa

2. Kısaltmalar

A	Adenin
ADRA1	Adrenerjik reseptör alfa 1
ADRA1A	Adrenerjik reseptör alfa 1 A
ADRA1B	Adrenerjik reseptör alfa 1 B
ADRA1D	Adrenerjik reseptör alfa 1 D
ADRA2	Adrenerjik reseptör alfa 2
ADRA2 A	Adrenerjik reseptör alfa 2 A
ADRA2 B	Adrenerjik reseptör alfa 2 B
ADRA2 C	Adrenerjik reseptör alfa 2 C
ADR β 1	Adrenerjik reseptör beta 1
ADR β 2	Adrenerjik reseptör beta 2
ADR β 3	Adrenerjik reseptör beta 3
AHI	Apne hipopne indeksi

ATP	Adenozintrifosfat
C	Sitozin
DNA	Deoksiribo nükleik asit
dNTP	Deoksiribo nükleotid trifosfatlar
EDTA	Etilen diaimin tetra asetikasit
ELB	Eritrozis liziz buffer
G	Guanin
GDP	Guanozin di fosfat
GTP	Guanozin tri fosfat
NLB	Nüklear liziz buffer
NREM	Non rapid eye movement (yavaş dalga uykusu)
OUAS	Obstrüktif uyku apne sendromu
PSG	Polisomnografi
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
RE	Restriksiyon enzimi
REM	Rapid eye movement (paradoksal uyku)
RFLP	Restriksiyon Parça Uzunluğu Polimorfizmi
SDS	Sodyum dodesil sülfat
SNP	Tek nükleotid polimorfizmi
T	Timin
TBE	Tris borat edta
ÜSY	Üst solunum yolları
VKİ	Vücut kitle indeksi

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2. 1 Uyku apne sendromunda solunum-uyku ilişkisi	5
Şekil 2. 2 Adrenerjik reseptörlerin moleküler yapısı	12
Şekil 2. 3 β -Adrenerjik Reseptörlerin G_s - proteini Aracılı Hücre İçi Etki Mekanizması	14
Şekil 2. 4 ADR β 2 Geninin Kromozom Üzerindeki Yeri	15
Şekil 2. 5 β_2 -Adrenerjik Reseptörün Polimorfik Bölgelerinin Lokalizasyonu Ve İlgili Fenotipler	17
Şekil 2. 6 PCR reaksiyonunun şematik olarak gösterilmesi	19
Şekil 4. 1 ADR β 2 Gln27Glu Polimorfizmi hasta ve kontrol grubunun grafiği	31
Şekil 4. 2 ADR β 2 Gln27Glu Polimorfizmi vücut kitle indeks grafiği	32
Şekil 4. 3 ADR β 2 Arg16Gly Polimorfizmi hasta ve kontrol grubunun grafiği	34
Şekil 4. 4 ADR β 2 Gln27Glu Polimorfizmi VKİ grafiği	35

RESİMLER DİZİNİ

Resim 4. 1 Gln27Glu gen polimorfizminin hasta gruplarına ait bulguları	30
Resim 4. 2 Gln27Glu gen polimorfizminin kontrol gruplarına ait bulguları	30
Resim 4. 3 Arg16Gly gen polimorfizminin hasta gruplarına ait bulguları	33
Resim 4. 4 Arg16Gly gen polimorfizminin kontrol gruplarına ait bulgular	33
Resim 4. 5 ADR β 2 geninin enzim ile kesimi	34

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 2. 1 OUAS sıklığı üzerine yapılan çalışmalar	4
Çizelge 2. 2 OUAS derecesi	5
Çizelge 2. 3 OUAS' la ilişkili hastalıklar	7
Çizelge 2. 4 OUAS Klinik Bulguları	8
Çizelge 2. 5 Epworth Uykululuk Ölçeği	8
Çizelge 2. 6 OUAS için ara fenotipleri ve olası aday genleri	11
Çizelge 2. 7 ADRA1A, ADRA1B, ADRA1D genom lokalizasyonu	13
Çizelge 2. 8 ADRA2A, ADRA2B ve ADRA2C genom lokalizasyonu	13
Çizelge 2. 9 ADR β 2 Geninde Tanımlanan Tek Nükleotid Polimorfizmleri	16
Çizelge 3. 1 Hastaların cinsiyet ve yaşlara göre dağılımı	20
Çizelge 3. 2 Hastaların cinsiyet ve vücut kitle indeksine göre dağılımı	21
Çizelge 3. 3 Hastaların cinsiyet ve apne hipopne indeksine göre dağılımı	21
Çizelge 3. 4 Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler	22
Çizelge 3. 5 Çalışmada kullanılan araç gereçler	22
Çizelge 3. 6 Gln27Glu polimorfizmi için PCR'de kullanılan bileşenler ve hacimleri	25
Çizelge 3. 7 Gln27Glu polimorfizmi için PCR döngüsü	25
Çizelge 3. 8 Arg16Gly polimorfizmi için PCR'de kullanılan bileşenler ve hacimleri	26
Çizelge 3. 9 Arg16Gly polimorfizmi için PCR döngüsü	26
Çizelge 3. 10 Gln27Glu Polimorfizm Analizi İçin Enzim reaksiyon karışımı	27
Çizelge 3. 11 Arg16Gly Polimorfizm Analizi İçin Enzim reaksiyon karışımı	27

Çizelge 4. 1 ADR β 2 Gen Polimorfizmlerinin dağılımı	29
Çizelge 4. 2 Polimorfizmlerin cinsiyetlere göre dağılımı	29
Çizelge 4. 3 ADR β 2 Gln27Glu Polimorfizmi hasta ve kontrol grubuna göre dağılımı	31
Çizelge 4.4 ADR β 2 Arg16Gly Polimorfizmi hasta ve kontrol grubuna göre dağılımı	32
Çizelge 4. 5 ADR β 2 Gln27Glu polimorfizminin vücut kitle indeksine (VKİ) göre dağılımı	35
Çizelge 4. 6 ADR β 2 Arg16Gly polimorfizminin VKİ'ye göre dağılımı	36

1. GİRİŞ

İnsan sağlığı için uyku vazgeçilmez bir durumdur. Yapılan çalışmalarda uykunun biyolojik ve psikolojik yenilenmeye hizmet ettiği tespit edilmiştir. Uyku ile ilişkili solunum bozuklukları hem kişisel sağlık problemleri ve ölüm oranı, hem de toplumsal ekonomik kayıplarla ilişkilidir [1]. Obstrüktif Uyku Apne Sendromu (OUAS) %90 oranında uykuda en çok görülen solunum bozukluğudur [2].

Apne, on saniye veya daha fazla süreyle ağız ve burunda hava akımının durmasıdır [3]. OUAS ise uykuda üst hava yolunda tekrarlanan tıkanıklıklar nedeniyle uyku sırasında oluşan solunum durması nöbetleridir. Uyku bölünmeleri, oksijen basınç oranı ve gündüz artmış uyku hali ile şekillenen klinik bir tablodur. OUAS sık görülen fakat yeteri kadar tanınmayan bir hastalıktır [4]. OUAS bilimsel anlamda ilk kez 1956'da Burwell ve arkadaşları tarafından tanımlamıştır. Avrupa da 1965 yılında birbirinden bağımsız olarak Fransa'da Gastaut, Tassinari ve Duran, Almanya'da ise Jung ve Kuklo OUAS'ı keşfedip bu sendromu tanımlamışlardır [5]. OUAS terimi 1973 yılında, Standford Üniversitesi'nde uyku kliniği kuran, Guilleminault ve arkadaşları tarafından tıp literatürüne girmiştir [6].

OUAS ilk tanımlandığında boyundan soluk borusuna açılan bir delik ile tedavi edilmiştir [7]. Sürekli Pozitif Hava Yolu Basıncı (Nazal CPAP)'nın 1981 yılında Sullivan ve arkadaşları tarafından geliştirilmesi ile uyku apnesinin sistemik olmayan güvenli, kolay uygulanabilir ve etkili tedavisi gündeme gelmiştir [8].

Türkiye de yaklaşık 1 milyondan fazla uyku apneli hasta bulunmaktadır [2]. Denek sayısının fazla olduğu, büyük olgu serisi araştırmalarda hastalığın 40-65 yaş arasında pik yaptığı ve erkeklerde %4, kadınlarda ise %2 orana sahip olduğu tespit edilmiştir [9, 10]. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde 30-65 yaş gruplarında 12 milyon kişinin OUAS'lı olduğu ve bunlarında yaklaşık %25'inin orta veya ağır dereceli Apne Hipopne İndeks (AHİ)'ine sahip olduğu tahmin edilmektedir. 65 yaş üzerindeki yaklaşık 31 milyon ABD'linin ise en iyi tahminle 7,5 milyonunun OUAS'lı olduğu ve bunlarında %46'sının orta veya ağır dereceli AHİ'ye sahip olduğu tahmin edilmektedir [11].

1993 yılında Young ve ark. ABD’de yaptıkları bir çalışmada, yaşları 30-60 arasında değişen, sağlıklı görünen bir popülasyonda 1453 kişide sürekli horlama saptamışlar ve bunların 602’sine polisomnografi (PSG) uygulamışlardır. Kadınların %9’unda ve erkeklerin %24’ünde AHİ değeri >5, kadınların %5’inde ve erkeklerin %15’inde AHİ değeri >10, kadınların %4’ünde ve erkeklerin %9’unda ise AHİ değeri >20 olarak saptanmıştır [12].

OUAS’ta yapılan bazı çalışmalar gösteriyor ki OUAS’ın aileler arasında ve ikizlerde görülme sıklığı daha yüksektir [13]. Bu da OUAS’ın genetik bir rahatsızlık olduğunu düşündürmektedir. Bu yüzden yapılan çalışmaların çoğunda genetik polimorfizm üzerinde odaklanılmaktadır.

Bu çalışmada β -2 adrenerjik reseptör geninin ($ADR\beta_2$) bölgemizdeki OUAS tanısı almış hastalar üzerindeki etkisinin genomik düzeyde moleküler teknikler kullanarak belirlenmesi amaçlandı. Bu genin kalp hastalıkları, solunum ve obezite ile genetik ilişkileri olduğu tanımlanmıştır. Ayrıca çalışmada Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) ve Restriksiyon Parça Uzunluğu Polimorfizmi (RFLP) teknikleride uygulandı.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 Uyku

Uyku organizmanın çevreyle iletişiminin, değişik uyaranlarla geri dönüşümlü biçimde kısmi, periyodik ve geçici olarak sonlandırılmasıdır. Bu durum hücrelerin tamiri, yenilenmesi, hafıza fonksiyonlarının düzenlenmesi, öğrenmenin sağlanması, vücudun dinlenmesi gibi süreçlerdir [14]. İnsanların gereksinim duydukları uyku; yaş, cinsiyet, beslenme, aktivite, sağlık durumu, çevresel ortam ve bireysel özelliklere göre farklılık göstererek kişiden kişiye değişir ve esasen genetik olan bir özelliktir [15,16].

Uyku, hızlı göz hareketlerinin olduğu “paradoksal uyku” (rapid eye movement, REM) ve hızlı göz hareketlerinin olmadığı “yavaş dalga uykusu” (non rapid eye movement, NREM) olmak üzere iki evre olarak tanımlanır [17].

a) REM Uykusu: Uykunun %20-25’ini oluşturur. Uyku süresince, REM dönemi 90–120 dakikalık periyotlarla gerçekleşir ve 5–30 dakikalık sikluslar halinde 4–6 kez tekrarlanır [18].

b) NREM Uykusu: Üç evreden oluşur. Uykunun %75-80’ini oluşturur. Evre 1 ve evre 2 yüzeysel veya hafif uyku, evre 3 ise derin uyku veya yavaş dalga uykusu olarak isimlendirilir.

-NREM Evre 1: Gece uykusunun %2-5’ini,

-NREM Evre 2: Gece uykusunun %45-55’ini,

-NREM Evre 3: Gece uykusunun %20-25’ini oluşturur.

Beyindeki solunum merkezleri ile uykuyla ilişkili sinirsel merkezler arası yakınlık uykuda solunumun etkilenmesine neden olmaktadır [19]. Uykuda solunum bozukluğunu yapan birçok hastalık olmasına rağmen en önemli grubunu OUAS oluşturmaktadır [20].

2.2 Obstrüktif Uyku Apne Sendromu (OUAS)

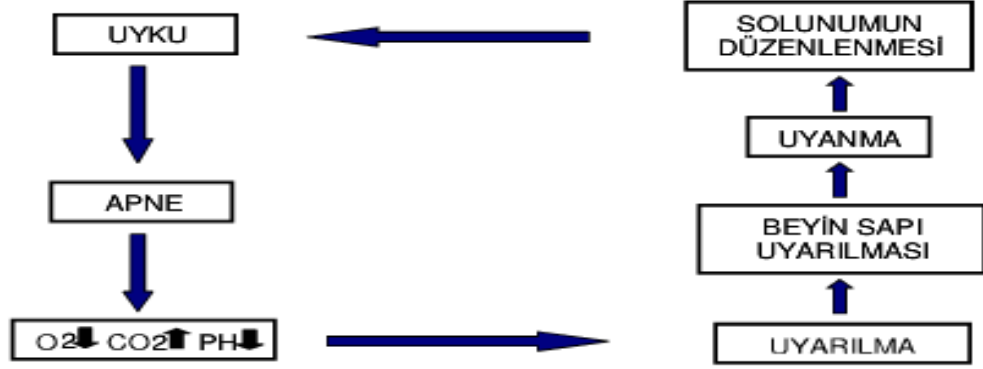
OUAS hava yolu daralmasına bağlı tekrarlayan hava akımı kısıtlılığı veya durması ile karakterize bir hastalık olduğu belirtilmiştir [21, 22, 23]. OUAS basit horlamadan, ciddi kardiyak ve akciğer ile ilgili komplikasyonlara kadar uzanan geniş semptomlar dizisine sahip bir hastalık olduğu belirtilmiştir [21, 23, 24, 25, 26].

OUAS, her iki cinste, tüm ırk, yaş, sosyoekonomik düzey ve etnik gruplarda görülebilen ve en sık karşılaşılan uyku bozukluklarından biridir. OUAS; toplumdan topluma değişen yaygınlığa sahip bir hastalıktır (Çizelge 2. 1). Çevresel ve kalıtsal çok sayıda faktörden etkilendiği anlaşılmıştır [27].

Çizelge 2. 1 OUAS sıklığı üzerine yapılan çalışmalar [28]

Ülke	N	Etnik	Uygulanan metot	Görülme sıklığı		Kaynak
				Erkek	Bayan	
ABD	602	Beyaz	Polisomnografi	%4	%2	Young
	1,741	Beyaz	Polisomnografi	%3.9	%1.2	Bixer
Avustralya	485	Beyaz	Mesam IV	%3.1	-	Bearpark
Hindistan	250	Hintli	Polisomnografi	%7.5	%4.5	Udvardia
Çin	258	Çinli	Polisomnografi	%4.1	-	Ip
		Çinli	Polisomnografi	-	%2.1	Ip
Kore	457	Koreli	Polisomnografi	%4.5	%2.3	Kim

Uykuya dalınca apne (10 sn veya daha uzun süre ile solunumun durması) başlamakta, oksijen düzeyi düşerken CO₂ düzeyi artmakta ve pH düşmektedir (Şekil 2. 1). Tüm bu değişimler, organizmada uyarılmışlığın yaşanmasına, ölüme benzer bir durumun ortaya çıktığı sinyallerin alınmasına yol açmaktadır [29].



Şekil 2. 1 Uyku apne sendromunda solunum-uyku ilişkisi [29]

OUAS'ın şiddeti, uyku sırasında meydana gelen apne ve hipopnelerin toplam sayısının, toplam uyku saatine bölünmesiyle elde edilen apne hipopne indeksiyle (AHİ) ölçülmektedir [30].

Apne-hipopne indeksi 5'ten büyük olgular OUAS olarak kabul edilir. Bu kriter dikkate alınarak yapılan sınıflama Çizelge 2. 2 deki gibidir [27].

Çizelge 2. 2 OUAS derecesi [27]

AHİ	OUAS DERECESİ
5<	Basit horlama
5-15	Hafif
15-30	Orta
>30	Ağır

2.3 OUAS Risk Faktörleri

OUAS için obezite, erkek cinsiyet, yaş, boyun çevresi, ırk, sigara, alkol, ilaçlar, genetik faktörler, menopoz sonrası dönem, küçük dil büyüklüğü, uzun yumuşak damak yapısının en önemli risk faktörü olduğu belirtilmiştir [31].

Dünyada beslenme alışkanlıklarına bağlı olarak obezite insan sağlığını tehdit eden hızlı bir yayılım göstermektedir [32]. ABD’de artan obezite sıklığı ile birlikte OUAS’ın artan bir sağlık sorunu olacağı öngörülmüştür [6]. Özellikle santral obezite, Üst solunum yolu (ÜSY) çevresinde yağ birikimi ile ÜSY açıklığını etkiler. Ayrıca karındaki yağ birikimi ile solunum düzensizliği OUAS’a eğiliminin arttırdığı bildirilmiştir [33]. 40-65 yaş erkeklerde OUAS sıklığının arttığı belirtilmiştir [34]. 1001 kişilik 35-65 yaş arası erkek popülasyonunda yapılan çalışmada boyun çevresi, alkol alımı, yaş ve obezitenin OUAS için bağımsız risk faktörü olduğu bulunmuştur [35]. Erkeklerde boyun çevresi 43 cm, kadınlarda 38 cm ve üstü risk faktörü olarak kabul edildiği bildirilmiştir [33]. Wetter 1994 yılında yaptığı çalışmada sigara içicilerinde 3 kat daha fazla OUAS riski olduğunu tespit etmiştir [36]. Deneysel çalışmalara alkolün AHI’yi artırdığını göstermiştir. Uyumaya yakın alkol alımının, uykudaki apne sıklığı ve sayısını artırdığı tespit edilmişse de alkolün uyku üzerindeki uzun dönem etkileri halen bilinmediği bildirilmektedir [37]. OUAS’ın semptom ve laboratuvar bulguları, hastaların akrabalarında normal popülasyona kıyasla daha sık görülmektedir. OUAS’ın birçok kalıtsal hastalıkla bağlantısı olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur [38, 39, 40]. Afrika ve Uzakdoğu popülasyonunda OUAS sıklığı daha yüksektir [41, 42]. Menopoz öncesi kadınlarda OUAS sıklığı %0.6 iken menopoz sonrası ve hormon takviyesi (hormon replasman tedavisi) almayanlarda OUAS sıklığı %2.7’ye çıkmaktadır [43].

2.4 OUAS’la İlişkili Hastalıklar

Kalıtsal hastalıklar; Down sendromu, ÜSY patolojileri; bademcik büyümesi, burun eti, akciğer hastalıkları; astım, endokrin hastalıklar; obezite, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar; hipertansiyon, kalp yetmezliği gibi bulgusu olan hastalarda OUAS hastalığı daha sık görüldüğü belirtilmektedir [44, 45, 46].

OUAS ile ilişkili hastalıklar 5 ana grup altında sınıflandırılarak çizelge 2. 3’te belirtilmiştir [47].

Çizelge 2. 3 OUAS’la ilişkili hastalıklar [47]

Kalıtsal Hastalıklar	Fragile X sendromu Angelman sendromu Down sendromu
ÜSY Patolojileri	Arnold-Chiari malformasyonu Bademcik büyümesi Geniz eti Burunda eğrilik Nezle, saman nezlesi Burun eti Dilin aşırı büyük olması Çene bozuklukları Gırtlak hastalıkları
Akciğer Hastalıkları (Akc. Hast.)	Obstrüktif Akc. Hast.(KOAİ, astma) Restriktif Akc. Hast. (Overlap send)
Endokrin Hastalıklar	Diabetes Mellitus Hipotroidi(Troid bezi bozukluğu) Akromegali (Büyüme hormonu fazlalığı) Obezite
Kardiyovasküler Hastalıklar	Aterosklerotik Kalp Hastalığı(ASKH) Hipertansiyon Kalp yetmezliği Aritmiler

2.5 OUAS’ta Klinik Bulgular

OUAS’lı hastalar uyku ve uyanıklık dönemine ait bulgulara sahiptirler. Uyku bulguları açısından, ayrıntılı bir uyku kaydı alınması oldukça önemlidir. Hastaların kayıtları alınırken eşinin de hasta ile beraber sorgulanması özellikle gece semptomlarının gözden kaçmaması açısından önemlidir. Hastalarda genellikle horlama ve gündüz aşırı uykululuk hali klinik tabloya hakim temel semptomlar olduğu bildirilmektedir [48]. Klinik bulgular çizelge 2. 4’de verilmiştir.

Çizelge 2. 4 OUAS Klinik Bulguları [49]

<ul style="list-style-type: none">• Gündüz uykululuk• Dinlendirici olmayan uyku• Tanıklı apne• Konsantrasyon kaybı• Kognitif(bilişsel) bozukluklar• Duygu durum değişikliği• Sabah baş ağrıları• Tuhaf rüyalar veya kabuslar• Gastroözefagal reflü• Polisitemi	<ul style="list-style-type: none">• Obezite• Kalın boyun• Sistemik hipertansiyon• Hiperkapni• Kardiyovasküler hastalık• Serebrovasküler hastalık• Aritmiler• Daralmış hava yolu• Pulmoner hipertansiyon• Kor pulmonale
---	---

Hastaların çoğu uzman hekimlere horlama yakınması ile başvurur. Horlayan hastalara mutlaka gündüz uykululuk durumu sorulmalıdır. Gündüz uykululuk sık görülür fakat hastalığın sinsi başlangıçlı ve kronik seyirli olması nedeni ile fark edilemeyebilir. Hasta uykululuk semptomunu yorgunluk olarak ifade edebilir [50]. Okurken, izlerken, araç kullanırken veya uygunsuz ortamlarda uykulu hissetmesi veya uykuya dalması ile ilgili ayrıntılı sorgulama yapılmalıdır. Gündüz uykululuğu değerlendirmede Epworth uykululuk ölçeği hızlı tarama yapmayı sağlayan basit bir ankettir (Çizelge 2. 5) [51].

Çizelge 2. 5 Epworth Uykululuk Ölçeği [51]

SORU	Hiç	Nadiren	Sıklıkla	Her zaman
Oturur durumda gazete veya kitap okurken uyuklar mısınız?	0	1	2	3
Televizyon seyrederken uyuklar mısınız?	0	1	2	3
Pasif olarak toplum içinde otururken, sinemada ya da tiyatrodada uyuklar mısınız?	0	1	2	3
Ara vermeden en az 1 saatlik araba yolculuğunda uyuklar mısınız?	0	1	2	3
Öğleden sonra uzanınca uyuklar mısınız?	0	1	2	3
Birisi ile oturup konuşurken uyuklar mısınız?	0	1	2	3
Alkol almamış, öğle yemeğinden sonra sessiz ortamda otururken uyuklar mısınız?	0	1	2	3
Trafik birkaç dakika durduğunda, kırmızı ışıkta, arabada beklerken uyuklar mısınız?	0	1	2	3

2.6 Genetik Hastalıklar ve OUAS

Genetik hastalıklar çoğunlukla çok ciddi sorunlara yol açan ancak tedavi olanakları şimdiki durumda sınırlı olan hastalıklardır. Ayrıca ailede bir kişide bu hastalıkların ortaya çıkması, ailenin diğer fertleri için risk meydana getirdiği bildirilmiştir [52].

Bazı ailelerde OUAS oranının ait oldukları toplumdakinden yüksek olduğu bildirilmektedir. Ayrıca ÜSY'da yapısal değişikliklerle seyreden ve solunum merkezini etkileyen birçok kalıtsal ve genetik geçişli hastalıkta da uyku bozukluklarının sık görüldüğü belirtilmektedir [53].

Bu genetik hastalıkların geçişini gösterebilmek için polimorfizme başvurulur. Polimorfizm; bir popülasyonda farklı alellere bağlı, genetik olarak belirlenmiş iki veya daha çok alternatif fenotipin görülmesidir. Polimorfizm, tüm birey düzeyinde (fenotip), proteinlerin ve kan gruplarının varyant formlarında (biyokimyasal polimorfizm), DNA düzeyinde nükleotid farklılıkları (DNA polimorfizm) şeklinde görülebilir [54].

Mutasyonlar ise, DNA'nın nükleotid dizilerindeki veya düzenlenmesindeki kalıcı değişiklikler olarak tanımlanır [55]. Polimorfizmler popülasyonda mutasyonlardan daha yüksek sıklıkta bulunurlar. Mutasyonlar hastalık nedeni olabilirken, polimorfizmler hastalık nedeni olmayabilirler. Ancak polimorfizmlerin hastalığa yatkınlık nedeni olabildiği bildirilmiştir [56]. Polimorfizm çeşitlerinden en sık görüleni DNA polimorfizmi olan tek nükleotid polimorfizmi (SNP)'dir. SNP genom dizisindeki Adenin (A), Timin (T), Guanin (G) ve Sitozin (C) bazlarından birisinin değişmesiyle meydana gelir. Örneğin; GGCAATGAA dizisinin GGCTTATGAA dizisi şekline dönüşmesi ile bir SNP oluşur. Varyasyonun SNP olarak değerlendirilebilmesi için, o SNP'nin popülasyonda en az % 1 oranında görülmesi gerekmektedir [57, 58]. İnsanlar arasındaki genetik farklılıkların % 90'ını oluşturan SNP'ler genomda her bin baz da bir görülmektedir [58].

Bu çalışmada bizi daha çok SNP ilgilendirmektedir. Çünkü çalışacağımız β_2 adrenerejik reseptör geninde Arg16Gly (A-G), Gln27Glu (C-G) SNP'leri görülmektedir.

OUAS ile ilgili yapılan çalışmalar bugün OUAS'ın genetik bir hastalık olduğunu ortaya atan bilim insanları mevcuttur.

1988 yılında, Manon ve Espaillet ABD'de yaptığı "Ailesel Uyku Apne Plus Sendromu. Bir Aile Raporu" isimli makalede uyku apnesinin kompleks nöbetler ve işlev bozukluğu oluşturan ailesel bir bozukluk olduğunu tarif etmişlerdir [59].

1988 yılında, Kaprio ve arkadaşları 4000'den fazla Finlandiyalı ikizlerde yaptığı çalışmada tekyumurta ve çiftyumurta ikizlerde horlamanın bir rolünün olduğunu ve tekyumurta ikizlerde daha fazla olduğunu belirtmişlerdir [60].

1990 yılında, El Bayadi ve arkadaşları ABD'de yaptıkları çalışmada 10 kişilik bir ailede tüm aile bireylerinde horlama ve nefes darlığı çektiği, 5 kişide ise gündüz aşırı uykululuk hali görüldüğü belirtilmiştir. Fizyolojik ve anatomik ölçümlerinin dağılımı OUAS için bir genetik temele katkı sağlar ve hastalığın solunum kontrol anormallikleri, anatomik risk faktörleri arasındaki etkileşimler sonucu çıkabileceğini düşündürmektedir [61].

1995 yılında Ferini-Strambi İtalya'da yaptıkları çalışmada 776 kişiden 492 tekyumurta ve 284 çiftyumurta ikizlerde horlama oranlarının tekyumurta ikizlerde çiftyumurta ikizlere oranla daha yüksek olduğunu doğrulamışlardır. Vücut kitle indeksi (VKİ)'i daha yüksek olan tekyumurta ikizlerde çiftyumurta ikizlere göre horlama ile ilişkisinin daha yüksek olduğunu doğrulamışlardır [62].

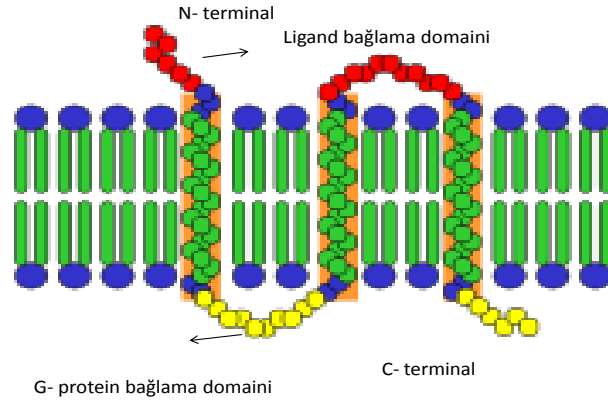
Larkin ve arkadaşları 2010 yılında Avrupa ve Afrika kökenli Amerikalılarda OUAS ile ilişkili obezite, kraniofasiyal gelişim, inflamasyon ve solunum kontrolü gibi hastalıkta rol alan akla yatkın 52 gen (Çizelge 2. 6) içinden OUAS için ilk aday geni tanımlamışlardır [63]. Afrika kökenli Amerikalılarda serotonin reseptör 2a'da (HTR2a) sadece rs9526240 polimorfizminin OUAS ile ilişkili olduğu bulunmuş ve bu ilişkinin şiddetinin VKİ'ye göre ayarlanması ile azaldığı gösterilmiştir. Bu da HTR2a'nın vücut ağırlığı üzerinde etkili olduğunu desteklemektedir [64].

Çizelge 2. 6 OUAS için ara fenotipleri ve olası aday genleri [63]

Fenotip	Gene
Kraniyofasiyal morfoloji	Fibroblast growth factor receptor 1 (FGFR1)
	Fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2)
	Fibroblast growth factor receptor 3 (FGFR3)
	Muscle segment homeobox 1 (MSX1)
	Muscle segment homeobox 2 (MSX2)
	Paired-like homeobox 2B (PHOX2B)
	Patched 1 (PTCH1)
	Sonic hedgehog (SHH)
	Treacle (TCOF1)
	Transforming growth factor-b receptor 1 (TGFBR1)
Obesity/ inflammation	Cholecystokinin A receptor (CCKAR)
	C-reactive protein (CRP)
	Hypocretin receptor 2 (HCRTR2)
	Insulin-induced gene 2 (INSIG2)
	Leptin (LEP)
	b3-Adrenergic receptor (ADRB3)
	Lipoprotein lipase (LPL)
	Melanocortin 3 receptor (MC3R)
	Melanocortin 4 receptor (MC4R)
	Plasminogen activator inhibitor 1 (SERPINE1)
	Tumor necrosis factor (TNF)
	Uncoupling protein 2 (UCP2)
	Uncoupling protein 3 (UCP3)
	Achaete-scute complex 1 (ASCL1)
	Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)
Solunum kontrolü	Endothelin-converting enzyme 1 (ECE1)
	Endothelin 1 (EDN1)
	Endothelin 3 (EDN3)
	Endothelin receptor A (EDNRA)
	Glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF)
	g-Glutamyltransferase 1 (GGT1)
	Hypoxia-inducible factor 1 alpha (HIF1A)
	Necdin (NDN)
	Nitric oxide synthase 3 (NOS3)
	Rearranged during transfection protooncogene (RET)
	aB-Adrenergic receptor (ADRA1B)
	a2A-Adrenergic receptor (ADRA2A)
Diğer mutasyonlar	b1-Adrenergic receptor (ADRB1)
	b2-Adrenergic receptor (ADRB2)
	GABA B receptor 1 (GABBR1)
	Guanine nucleotide-binding protein 3 (GNB3)
	Serotonin receptor 1B (HTR1B)
	Serotonin receptor 2A (HTR2A)
	Serotonin receptor 2C (HTR2C)
	Serotonin receptor 3A (HTR3A)
	Serotonin receptor 3B (HTR3B)
	Serotonin receptor 3C (HTR3C)
	Serotonin receptor 3D (HTR3D)
	Serotonin receptor 3E (HTR3E)
	Insulin receptor substrate 1 (IRS1)
	Peripheral myelin protein 22 (PMP22)
	Serotonin transporter (S LC6A4)

2.7 Adrenerjik Reseptörler

Adrenal medulla ve simpatik sinir sonlarından epinefrin (adrenalin), norepinefrin (noradrenalin) ve dopamin vb katekolaminler; tüm vücutta hücre membranlarında yer alan aynı reseptör ailesine bağlanarak etki göstermektedirler. Adrenerjik reseptörler olarak adlandırılan bu reseptörler, membranı geçen 7 domaine sahip olan ve hücre dışı amino terminalleri ile hücre içi karboksi terminaller içeren transmembran proteinleridir. Ayrıca hücre içi sinyal iletiminde önemli bir aracı molekül olan Guanin bağlanan düzenleyici protein (G proteini) ile eşleşen reseptörlerin bir sınıfını oluştururlar (Şekil 2. 2) [65].



Şekil 2. 2 Adrenerjik reseptörlerin moleküler yapısı [55]

Adrenerjik reseptörler, katekolamin grubundan özellikle adrenalin ve noradrenaline bağlanarak aktive olurlar. Birçok farklı hücre tipinde bulunan adrenerjik reseptörler, ikincil habercilerin sentez ve salınmasını kontrol ederek değişik fizyolojik olayları düzenlerler [66].

Adrenerjik reseptörler, alfa (α) ve beta (β) olmak üzere 2 ana alt grupta incelenirler.

2.7.1 Alfa Adrenerjik Reseptör (ADRA) Genleri

Periferel sempatik sinir uçlarındaki α -adrenerjik reseptörler, anatomik lokalizasyonuna göre α_1 ve α_2 olmak üzere 2 ana alt gruba ayrılırlar [67].

A) Vasküler düz kaslardaki α_1 -adrenerjik reseptörler (ADRA1), nörotransmitter salınımına yanıtta fonksiyonel bir görev üstlenmektedir.

α_1 -adrenerjik reseptörler alfa-1A (α -1a), -1B (α -1b) ve -1D (α -1d) olmak üzere 3 alt protein domainine ayrılır (Çizelge 2. 7) [67].

Çizelge 2. 7 ADRA1A, ADRA1B, ADRA1D genom lokalizasyonu [55]

Gen	ADRA1A	ADRA1B	ADRA1D
Lokalizasyonu	8p21.2	5q33.3	20p13
Uzunluğu	3.03 kb	56.2 kb	27.8 kb
Ekzon Sayısı	1	2	2

B) α_2 -adrenerjik reseptörler (ADRA2); hem presnaptik hem de postsinaptik membranda yerleşim gösterirler. ADRA2' nin α -2a , α -2b , α -2c olmak üzere 3 alt proteini vardır (Çizelge 2. 8). Bunlar sırasıyla ADRA2A, ADRA2B ve ADRA2C genleri tarafından kodlanır [67].

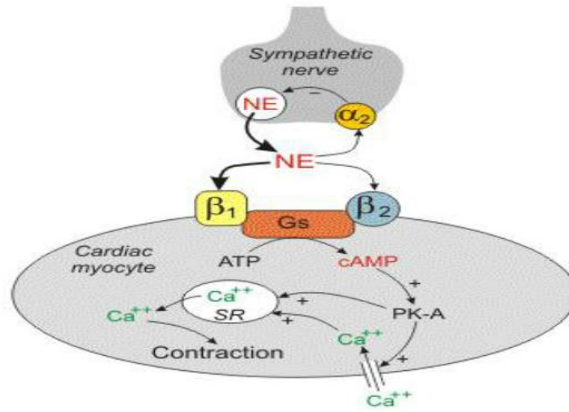
Çizelge 2. 8 ADRA2A, ADRA2B ve ADRA2C genom lokalizasyonu [55]

Gen	ADRA2A	ADRA2B	ADRA2C
Lokalizasyonu	10q25.2	2q11.2	4p16.2
Uzunluğu	3.6 kb	3.2 kb	1.9 kb
Ekzon Sayısı	1	2	1

2.7.2 Beta Adrenerjik Reseptör (ADRB) Genleri

Endojen katekolaminlerden, adrenalin ve noradrenalin hedefi olan β -adrenerjik reseptörler (β -adrenoseptörler), vücutta birçok hücre tipinde ifade edilmekte ve kardiyak, pulmoner, vasküler ve merkezi sinir sisteminin regülasyonunda rol oynamaktadırlar. Hücre içi etkilerini, stimülatör G-proteini (G_s) aracılığıyla ikincil habercilerden siklik Adenozin mono fosfat' ın (cAMP) sentez ve salınımını kontrol ederek düzenlerler [68].

B-adrenerjik reseptörlerin bir nörotransmitter ile uyarılması ile G_s - proteini reseptöre bağlanır. Uyarılmamış haldeyken reseptörden ayrı ve guanozin di fosfat (GDP) bağlanmış durumda olan G_s - proteini, reseptörce uyarıldığında guanozin tri fosfat (GTP) bağlayarak aktive olur ve adenozin tri fosfat (ATP)'dan cAMP sentezleyen adenilat siklaz enzimini etkinleştirir. Enzim aktivasyonu sonucunda da hücre içi, ikinci mesajcı olan cAMP bağımlı protein kinazı (PK-A) aktive etmektedir. Aktif PK-A da kalsiyum kanallarını fosforilleyerek hücre içine kalsiyum girişini ve dolayısıyla da kalpteki sarkoplazmik retikulumdan Ca^{++} salınımını arttırmaktadır (Şekil 2. 3) [69].



Şekil 2. 3 β -Adrenerjik Reseptörlerin G_s -proteini Aracılı Hücre İçi Etki Mekanizması [55]

Farmakolojik, biyokimyasal ve moleküler biyolojik çalışmalar sonucu, β_1 , β_2 , β_3 olmak üzere 3 β -AR alt tipi tanımlanmıştır [70].

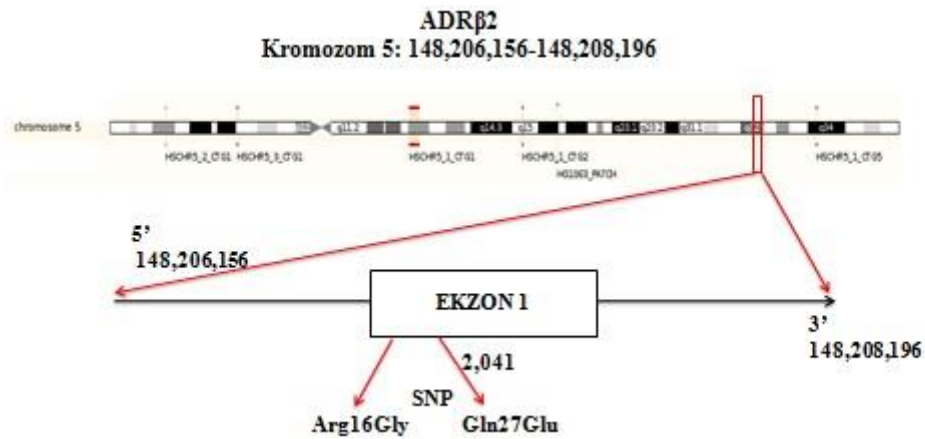
2.7.2.1 Beta- 1 Adrenerjik Reseptör Geni (ADRB1)

β_1 –adrenerjik reseptörü, kromozom 10q24-26’da lokalize olan, intron içermeyen, tek ekzondan oluşan ADR β_1 geni tarafından kodlanmaktadır [71]. İlk kez 1987 yılında klonlanmış ve dizisi çıkarılmış ADR β_1 geni, 86 kb’lik (kilo baz) kısa 5’-UTR (çevrilmemiş bölge), 900 kb’lik 3’- UTR ve 477 aminoasitlik bir proteini kodlayan bir açık okuma çerçevesinden oluşmaktadır [72].

ADRB1 geni insan popülasyonunda polimorfik varyasyonlar gösterebilmektedir. Örneğin; Podlowski ve ark. ADR β_1 geninde 7 farklı tek nükleotid polimorfizmi (SNP) tanımlamışlar ve her SNP’nin bir aminoasit değişimine öncülük ettiğini ortaya çıkarmışlardır [73]. Tanımlanan Ser49Gly, Ala59Ser, Gly389Arg, Arg399Cys, His402Arg, Thr404Ala ve Pro418Ala polimorfizmlerinden Ser49Gly ve Gly389Arg polimorfizmlerinin fonksiyonel öneme sahip olduğu düşünülmektedir [7].

2.7.2.2 Beta-2 Adrenerjik Reseptör Geni (ADRB2)

β_2 adrenerjik reseptörü kromozom 5q33.1’de lokalize intron içermeyen ADR β_2 geni tarafından kodlanmaktadır (Şekil 2. 4). Tek bir ekzon içeren gen, 411 aminoasitlik protein kodlamaktadır. ADR β_2 geni polimorfiktir ve kodlayan bölgede 9 SNP tanımlanmıştır (Çizelge 2. 9) [67].



Şekil 2. 4 ADR β_2 Geninin Kromozom Üzerindeki Yeri [75]

Çizelge 2. 9ADR β 2 Geninde Tanımlanan Tek Nükleotid Polimorfizimleri [56]

Pozisyon	SNP	Aminoasit Pozisyonu	Aminoasit Değişimi	Regülatör Bölge
46	A/G	16	Arg→Gly	N-Terminal
79	C/G	27	Gln→Glu	N-Terminal
100	G/A	34	Val→Met	1-TMD
252	A/G	84	Leu	2-TMD
491	C/T	164	Thr→Ile	4-TMD
532	A/C	175	Arg	4-TMD
1053	C/G	351	Gly	C-Terminal
1098	C/T	366	Tyr	C-Terminal
1239	C/G/T	413	Leu	C-Terminal

Tanımlanmış olan 9 SNP' den 46. , 79. , ve 491. Pozisyonadaki tek nükleotid değişimleri fonksiyonel bir öneme sahiptir. Bunlardan Val34Met polimorfizmi çok nadir olarak görülmekte ve reseptör fonksiyonunu değiştirmemektedir; geriye kalan diğer 5 polimorfizmin ise fonksiyonel etkisi bulunmaktadır [76].

2.7.2.2.1 Beta-2 Adrenerjik Reseptörü Arg16Gly Polimorfizmi

Arg16Gly polimorfizmi, reseptörün hücre dışı N- terminal bölgesinde 46. Nükleotidde gerçekleşmektedir. Adenin (A) bazının Guanin (G) bazına değişimini içeren bu polimorfizm, 16. Kodonda Arjinin (Arg) aminoasidinin Glisin (Gly) aminoasidine dönüşümüne neden olmaktadır [68].

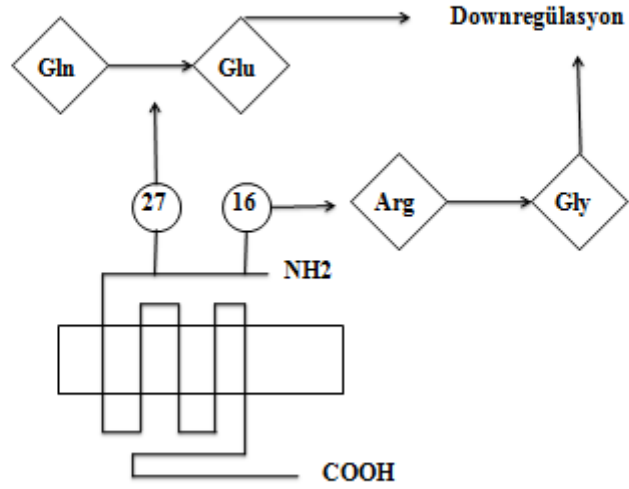
ADR β 2'deki Arg16Gly polimorfizminde AA (Arg/Arg) yabani tip, AG (Arg/Gly) heterozigot ve GG (Gly/Gly) mutant genotiplerini oluşturmaktadır. Arg16 ve Gly16 allel sıklıkları sırasıyla, %35 ve %65 olarak tespit edilmiştir [68].

Arg16Gly polimorfizmi reseptör fonksiyonunu değiştirmekte; Gly16 genotipli reseptör varyantında, agonist-indüklü down- regülasyonda önemli derecede artış gözlenmektedir [77, 78].

2.7.2.2.2 Beta-2 Adrenerjik Reseptörü Gln27Glu polimorfizmi

Gln27Glu polimorfizmi, reseptörün N-terminal bölgesinde 79. Nükleotidde Sitozin © bazının Guanin (G) bazına değişimi sonucunda, 27. Kodonda Glutamin (Gln) aminoasidinin Glutamik (Glu) aside dönüşmesine sebep olmaktadır. ADR β 2' deki Gln27Glu polimorfizmi için CC (Gln/Gln) yabani tip, CG (Gln/Glu) heterozigot ve GG (Glu/Glu) mutant genotipi oluşturmaktadır [77].

Gln27 ve Glu27'nin allel sıklıkları sırasıyla; %55 ve %45'tir [79]. Arg16Gly polimorfizmindeki Gly16 genotipinin reseptör üzerindeki etkisine zıt olarak, Gln27Glu polimorfizmindeki Glu27 genotipli reseptörün, down- regülasyona karşı dirençli olduğu bulunmuştur (Şekil 2. 5) [78].



Şekil 2. 5 β ₂-Adrenerjik Reseptörün Polimorfik Bölgelerinin Lokalizasyonu ve İlgili Fenotipler [55].

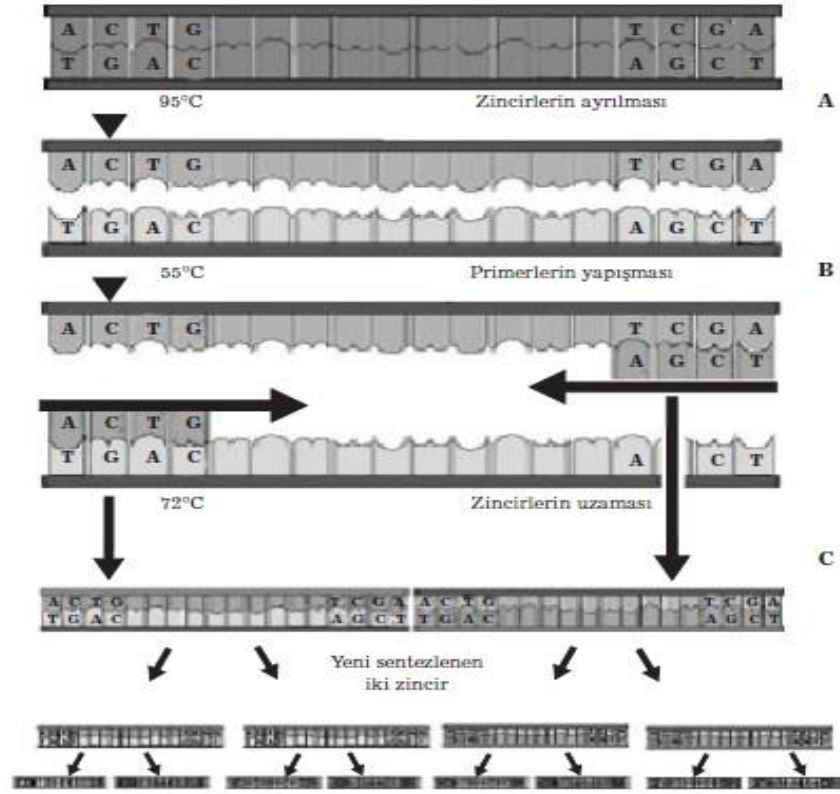
2.7.2.3 Beta-3 Adrenerjik Reseptör Geni (ADR β 3)

ADR β 3 geni 8. kromozomun p kolunda lokalize olmuştur. β 1 ve β 2' den farklı olarak 1 intron ve 2 ekzona sahiptir. 1.7 kb'lık birinci ekzon ilk 402 aminoasiti kodlamaktadır. İkinci ekzon ise reseptörün C-terminalindeki 6 amino asidi kodlamaktadır. Beta-3 adrenerjik reseptörü β 1 ve β 2 gibi G proteini ile kenetli reseptörler ailesindedir [80].

2.8 Mutasyon Analizlerinde Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler

2.8.1 Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

PCR, dizisi bilinen bir DNA bölgesinin in vitro olarak çoğaltılması yöntemidir. DNA molekülünün milyonlarca hatta milyarlarca kopyasını kısa zamanda yapmaya olanak sağlayan bir tekniktir. Bu teknikte tek bir gen bölgesi çoğaltılabileceği gibi genin sadece bir parçası da çoğaltılabilir. PCR ile genellikle 10 kilo baz (kb) uzunluğa kadar DNA bölgeleri çoğaltılabilmektedir [80]. PCR'nin prensibi; tekrarlanan üç basamağa dayanır (Şekil 2. 6). İlk basamak olan denatürasyonda PCR reaksiyonu içinde yer alan çift zincirli kalıp DNA'nın birbirinden ayrılması sağlanır. Genelde 94-95 °C'de 0.5-2 dakika denatürasyon için yeterlidir. İkinci basamakta ise birbirinden ayrılmış DNA zincirlerine primerlerin (ileri ve geri primer) 55-60 °C'de ve 0.5-2 dakikada bağlanması gerçekleşir. Son olarakta zincirin uzamasıdır ve taq DNA polimerazın aktivitesinin en yüksek olduğu 70-75 °C'de arasında gerçekleşir [81].



Şekil 2. 6 PCR reaksiyonunun şematik olarak gösterilmesi [81]

2.8.2 Restriksiyon Parça Uzunluğu Polimorfizmi (RFLP)

Restriksiyon enzimleri (RE) prokaryotlarda bulunan, ökaryotlarda bulunmayan 4, 6 ve 8 nükleotidden oluşan ve çoğunlukla genomda iki yönlü simetri oluşturan palindromik bölgelerdeki baz dizilerini tanıyıp, kesen endonükleazlardır. RE'ler DNA'daki büyük oluklara tutunur ve bu bölgedeki tanıma dizisinden DNA çift zincirine bağlanır. DNA'nın kesilmesi, tanıma dizisindeki özgül tanıma bölgelerinden olur. Enzimin özelliğine göre yapışkan ya da küt uçlu DNA ürünleri oluşur. Günümüzde RE'lerden yararlanılarak bir bireyin belirli bir hastalığa ait bir mutasyonu taşıyıp taşımadığını belirlemek amacıyla PCR'a dayalı enzim kesim sistemleri kullanılmaktadır. Bilinen mutasyonların taranması amacıyla geliştirilmiş olan PCR-RFLP analizinde bireyin mutasyonu ya da mutasyonları içeren DNA bölgesi veya bölgeleri PCR ile çoğaltılmakta ve mutasyonu içeren diziyi tanıyan bir restriksiyon enzimi ile bu PCR ürünü kesilmektedir. Kesim sonucu oluşan bantlar agaroz jelde yürütüldüğü zaman elde edilen bant profiline bakılarak mutasyonu taşıyıp taşımadığı söylenebilmektedir [82].

3. MATERYAL ve METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Kontrol ve Çalışma Grubu

Bu çalışma Mart 2011 - Nisan 2013 tarihleri arasında Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Nöroloji Anabilim Dalı'na başvuran ve uyku laboratuvarında Obstrüktif Uyku Apne Sendromu (OUAS) tanısı almış 33'ü (%63) erkek, 19'u (%37) kadın olmak üzere toplam 52 hastadan ve kontrol grubu olarak 45'i (%57) erkek, 33'ü (%43) kadın olmak üzere toplam 78 sağlıklı bireyden oluşturuldu. Çalışmaya başlamadan önce gerekli etik kurul izinleri alındı ve çalışmaya dahil edilen her birey için "Gönüllü Olur Formu" oluşturuldu. Uzman hekim tarafından hastalar ve kontrollerin her birinden EDTA'lı tüplere 8'er ml kan örnekleri alındı.

Genomik çalışmalar 2011-2012 yılı içerisinde Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü Laboratuvarında yapıldı. 2013 yılları arasında ise genomik çalışmalar Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi Biyomühendislik Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Hastalar ve demografi;

Çizelge 3. 1 Hastaların cinsiyet ve yaşlara göre dağılımı

	Kadın	%	Erkek	%
	N		N	
25-40 yaş	4	%7.69	12	%23.07
41-60 yaş	11	%21.16	17	%32.7
>61 yaş	4	%7.69	4	%7.69
Toplam	19	%36.54	33	%63.46

Çizelge 3. 2 Hastaların cinsiyet ve vücut kitle indeksine göre dağılımı

	Kadın	%	Erkek	%
	N		N	
20-30 VKİ	3	%5.77	17	%32.7
>31 VKİ	16	%30.77	16	%30.76
Toplam	19	%36.54	33	%63.46

Çizelge 3. 3 Hastaların cinsiyet ve apne hipopne indeksine göre dağılımı

	Kadın	%	Erkek	%
	N		N	
5-15 AHİ	2	%3.84	4	%7.69
Hafif				
15-30 AHİ	4	%7.69	11	%21.16
Orta				
>30 AHİ	13	%25	18	%34.61
Ağır				
Toplam	19	%36.54	33	%63.46

3.1.2 Kimyasallar ve Gereçler

Bu çalışmada kullanılan kimyasallar ve gereçler çizelge 3. 4 ve çizelge 3. 5 de belirtilmiştir.

Çizelge 3. 4 Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler.

Kimyasal	Marka
Trizma Hidroklorid	Sigma
Agaroz	Sigma
EDTA(Etilendiamintetra asetik asit)	Sigma
Trizma Baz	Sigma
SDS (Sodyum dodesil sülfat)	Sigma
Proteinaz K	Sigma
Sodyum klorür	Sigma-Aldrich
Sodyum hidroksit	Sigma-Aldrich
Amonyum klorür	Sigma-Aldrich
Potasyum hidrokarbonat	Merck
Etil alkol	Merck
Etidiyum bromid	Vivantis
dNTP (Deoksi nükleotit trifosfat)	Vivantis
Primerler	Genmar
Taq DNA polimeraz	Vivantis
10 X Tampon	Vivantis
Restriksiyon Enzimleri	New England BioLabs

Çizelge 3. 5 Çalışmada kullanılan araç gereçler.

Cihazlar	Marka
Etüv	Nüve (FN 500)
Soğutmalı santrifüj	Nüve (NF 400)
Buzdolabı	Beko
Mikrodalga fırın	Beko
Elektroforez düzeneği	Termo Scientific (EC 300 X)
Mini santrifüj	Scan Speed
Manyetik karıştırıcı	Velp Scientific
Hassas terazi	Scal Tec
Vorteks	Velp Scientific
Su banyosu	Memmert
Jel görüntüleme sistemi	Carestream
Derin dondurucu	Arçelik
PCR	Bioneer
Bilgisayar	HKC
Otomatik pipet seti	Nichiryo

3.1.3 Solüsyonlar

Eritrosit Liziz Buffer (ELB)

82.9 gr NH_4Cl , 10 gr KHCO_3 cam şişe içerisine boşaltıldı. Üzerine 20 ml 0.5M EDTA eklendi distile su ile 1 lt'ye tamamlandı ve otoklavda steril edildi.

Nükleer Liziz Buffer (NLB)

10 ml Tris-HCl, 40ml EDTA ve 23.37 gr NaCl ölçülerek cam şişeye alındı 1 lt'ye tamamlandı.

Sodyum Dodesil Sulfat (SDS)

10 gr SDS distile suda çözüldü ve 100 ml'ye tamamlandı.

Sodyum Klorür (NaCl 6M)

87.69 gr NaCl 250 ml distile suda çözüldü.

Tris- HCl (1M)

12.1 gr Trisbase 80 ml distile suda çözüldü ve 100 ml'ye tamamlandı.

Etilen Diamin Tetra Asetikasit (EDTA 0,5M)

18.6 gr EDTA 80 ml distile suda çözüldü. pH' ını ayarlamak için NaOH konuldu ve 100 ml'ye tamamlandı.

10X Tris-Borat-EDTA (TBE) Elektroforez Tamponu

Elimizde bulunan 10 X lik TBE'den 100 ml alındı ve distile su ile 1 lt'ye tamamlandı. 1X lik TBE elde edildi.

3.2 Metot

3.2.1 Periferal Kandan DNA İzolasyonu

10 ml'lik EDTA'lı tüplere alınan kanlar -20°C 'de saklandı. Derin dondurucudan çıkartılan kanlar 37°C 'de su banyosunda yaklaşık 30 dk. bekletildi. Su banyosundan çıkarılan kanlar temiz falkon tüplere aktarıldı. Her bir tüp içerisine 40 ml ELB eklendi ve hafifçe çalkalandı. Buz dolu bir kap içerisinde 30 dk. bekletildi. Buz içerisinden çıkarılan falkon tüpler 4°C 'de, 10 dk 2500 rpm'de santrifüj edildi. Tüplerin üstündeki süpernatant (sıvı) kısım tüpten uzaklaştırıldı. Tüpte kalan pellet üzerine 40 ml ELB eklendi ve kapakları sıkıca kapatılarak falkon tüpler kuvvetli bir şekilde çalkalandı. İyice çalkalanan tüpler tekrar 4°C 'de, 10 dk 2500 rpm'de santrifüj edildi. Tüplerin üstündeki süpernatant kısım tekrar döküldü. Bu sefer tüpte kalan pellet üzerine 25 ml ELB eklenerek 10 dk 2500 rpm'de santrifüj edildi. Santrifüjden sonra süpernatant dikkatli bir şekilde döküldü. Süpernatantı boşaltılmış pelletler üzerine 4'er ml NLB ve 10'ar μl proteinaz K eklendi. Tüplerin kapakları sıkıca kapatılarak vortekslendi. Son olarak tüplere 425 μl SDS eklendi ve 37°C 'ye ayarlanmış etüvde bir gece inkübe edildi.

İkinci aşama olarak ertesi gün etüvden çıkartılan örnekler oda sıcaklığında 30 dk. bekletildi. Her bir tüp içerisine 1.4 ml NaCl eklenerek 15 sn çalkalandı. 20°C , 15 dk. ve 4000 rpm'de santrifüjlendi. Süpernatant temiz tüplere alındı. Tekrar 20°C , 20 dk. ve 4000 rpm'de santrifüjlendi. Yine süpernatant temiz tüplere alınarak her bir tüpün üzerine 20 ml olacak şekilde %96'lık Etil Alkol eklenerek 1-2 dk. bekletildi. DNA'lar pipet yardımıyla 1.5 ml'lik eppendorf tüpe alındı ve üzerine 500 μl %70'lik etil alkol eklendi ve mikrosantrifüjde 6 dk. 6000 rpm'de santrifüj edilerek DNA pelleti çöktürüldü. Alkolün fazlası döküldü ve sonra DNA'lar 500 μl distile su içerisinde -20°C de saklandı.

3.2.2 OUAS'lı Hastalarda ve Kontrollerde Polimeraz Zincir Reaksiyonu Yöntemi İle Polimorfizm Analizi

3.2.2.1 ADR β 2 Gln27Glu Bölgesi Polimorfizm Analizi

ADR β 2 genindeki Gln27Glu polimorfizmi için F:5-CCGGACCACGACGTCACCCAG ve R:5-CCAGTGAAGTGATGAAGTAGTT -3 primerleri kullanılarak 169 kb'lik bir gen bölgesi PCR ile çoğaltıldı. Her bir örnek için 25 μ l'lik PCR reaksiyon karışımı çizelge 3. 6'de gösterildiği gibi yapıldı.

Çizelge 3. 6 Gln27Glu polimorfizmi için PCR'de kullanılan bileşenler ve hacimleri

Stok konsantrasyon	Hacim	Son Konsantrasyon
100 μ m İleri primer	1.25 μ l	10 μ m
100 μ m Geri primer	1.25 μ l	10 μ m
dNTP	2.0 μ l	2.5 mM
10X Tampon	2.5 μ l	1X
gDNA	1.0 μ l	
50mM MgCl ₂	1.25 μ l	2.5mM
5U/ μ l Taq DNA polimeraz	0.2 μ l	5U
dH ₂ O	15.55 μ l	
Toplam hacim	25 μl	

Çizelge 3. 7 Gln27Glu polimorfizmi için PCR döngüsü

Denatürasyon	95 ⁰ C	3 dakika	
	94 ⁰ C	30 sn denatürasyon	
Amplifikasyon	60 ⁰ C	30 sn bağlanma	30 döngü
	72 ⁰ C	45 sn uzama	
Son Uzama	72 ⁰ C	7 dakika	
Soğutma	4 ⁰ C	Sonsuz	

3.2.2.2 ADR β 2 Arg16Gly Bölgesi Polimorfizm Analizi

ADR β 2 genindeki Gln27Glu polimorfizmi için F:5- GCCTTCTTGCTGGCACGCAAT -3 ve R: 5- CCAGTGAAGTGATGAAGTAGTT -3 primerleri kullanılarak 203 kb'lik bir gen bölgesi PCR ile çoğaltıldı. Her bir örnek için 25 μ l'lik PCR reaksiyon karışımı çizelge 3. 8'de gösterildiği gibi yapıldı.

Çizelge 3. 8 Arg16Gly polimorfizmi için PCR’de kullanılan bileşenler ve hacimleri

Stok konsantrasyon	Hacim	Son Konsantrasyon
100µm İleri primer	1.25 µl	10 µm
100µm Geri primer	1.25 µl	10 µm
dNTP	2.0 µl	2.5 mM
10X Tampon	2.5 µl	1X
gDNA	1.0 µl	
50mM MgCl ₂	1.25 µl	2.5mM
5U/ µl Taq DNA polimeraz	0.2 µl	5U
dH ₂ O	15.55 µl	
Toplam hacim	25 µl	

Çizelge 3. 9 Arg16Gly polimorfizmi için PCR döngüsü

Denatürasyon	95 °C	3 dakika	
	94 °C	30sn denatürasyon	
Amplifikasyon	60 °C	30 sn bağlanma	30 döngü
	72 °C	45sn uzama	
Son Uzama	72 °C	7 dakika	
Soğutma	4 °C	Sonsuz	

3.2.3 Agaroz Jel Elektroforezi

ADRβ2 Gln27Glu ve Arg16Gly polimorfizm analizleri için %2’lik agaroz jel hazırlamak için 3 gram agaroz tartılarak 150 ml 1X TBE çözüldü. Sonra mikrodalga fırında agaroz tam çözünene kadar bekletildi. Oda sıcaklığına gelinceye kadar soğutuldu ve içerisine 8.5 µl etidiyum bromür eklendi. PCR ürünleri elektroforez sistemine yüklendi ve 120 Volt’da 90 dk yürütüldü.

3.2.4 Restriksiyon Enzim İle Kesim ve Analiz

3.2.4.1 ADRβ2 Gln27Glu Polimorfizm Analizi İçin Restriksiyon Enzim Kesimi

ADRβ2 geninin Gln27Glu polimorfizm analizi enzim kesim aşaması BstNI restriksiyon enzimi kullanılarak yapıldı. BstNI restriksiyon enziminin reaksiyon karışımı çizelge 3. 10’da verildiği şekilde ayarlandı.

Çizelge 3. 10 Gln27Glu polimorfizm analizi için Enzim reaksiyon karışımı

Bileşenler	Hacim
dH ₂ O	7.5 µl
PCR ürünü	10 µl
Buffer NE	2 µl
BstNI enzimi	0.5 µl
Toplam	20 µl

Restriksiyon enzimi reaksiyon karışımı 60 ° C'de 10 saat inkübe edildi. Kesim reaksiyonu sonucu oluşan ürünler % 3'lük agaroz jelde yürütüldükten sonra görüntülendi.

3.2.4.2 ADRβ2 Arg16Gly Polimorfizm Analizi İçin Restriksiyon Enzim Kesimi

ADRβ2 geninin Arg16Gly polimorfizm analizi enzim kesim aşaması, BsrDI restriksiyon enzimi kullanılarak yapıldı. BsrDI restriksiyon enziminin reaksiyon karışımı çizelge 3. 1'de verildiği şekilde ayarlandı.

Çizelge 3. 11 Arg16Gly polimorfizm analizi Enzim reaksiyon karışımı

Bileşenler	Hacim
dH ₂ O	3.2 µl
PCR ürünü	10 µl
Buffer NE	1.5 µl
BsrDI enzimi	0.3 µl
Toplam	15 µl

Restriksiyon enzimi reaksiyon karışımı 60 ° C'de 10 saat inkübe edildi. Kesim reaksiyonu sonucu oluşan ürünler % 3'lük agaroz jelde yürütüldükten sonra görüntülendi.

3.2.5 İstatistik Analizi

Bu çalışmada istatistiksel analizler GraphPad Prism 6 paket programı ile yapıldı. Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel metotların (ortalama, standart sapma) yanı sıra ikili grupların karşılaştırmasında bağımsız t testi, nitel verilerin karşılaştırmalarında Fisher gerçeklik testi kullanıldı. Sonuçların değerlendirilmesinde $\alpha:0,05$ anlamlılık düzeyi esas alındı.

4. BULGULAR

Çalışma grubumuzdaki hastalarda genomik analizler sonucunda ADR β 2 geni Gln27Glu polimorfizmi 52 hasta grubundan 21'inde (%40), kontrol grubunda ise 78 kişiden 28'inde (%35) gözlemlendi. ADR β 2 geni Arg16Gly polimorfizmi ise 52 hasta grubundan 18'inde (%34), kontrol grubunda ise 78 kişiden 23'ünde (%29) gözlemlendi.

Çizelge 4. 1 ADR β 2 Gen Polimorfizmlerinin hasta ve kontrol bireylerde dağılımı

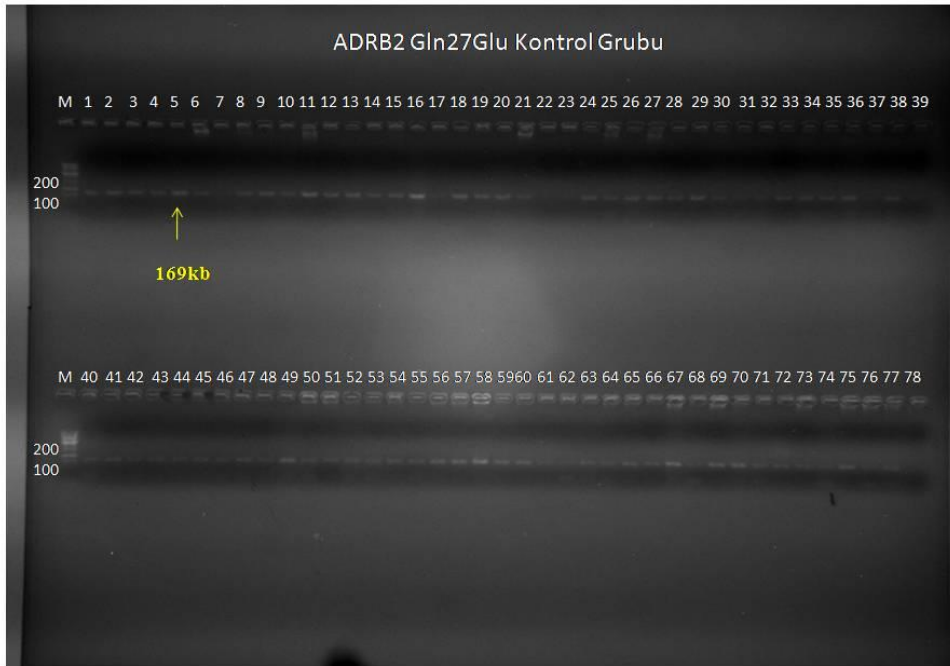
Polimorfizm tipi	Hasta	%	Kontrol	%
Gln27Glu	21	40	28	35
Arg16Gly	18	35	23	29

Çizelge 4. 2 Polimorfizmlerin hasta ve kontrol bireylerde cinsiyetlere göre dağılımı

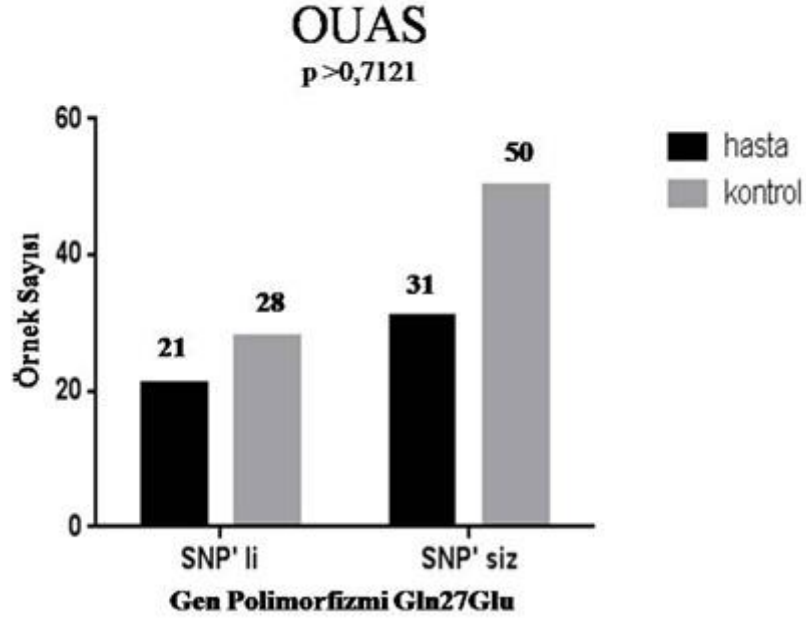
Polimorfizm tipi	Hasta		Kontrol	
	Kadın	Erkek	Kadın	Erkek
Gln27Glu	10 (%48)	11 (%52)	12 (%43)	16 (%57)
Arg16Gly	8 (%44)	10 (%56)	9 (%39)	14 (%61)



Resim 4. 1 ADR β 2 Gln27Glu geni PCR ürünleri hasta grubu görüntüsü (169 kb)



Resim 4. 2 ADR β 2 Gln27Glu geni PCR ürünleri kontrol grubu görüntüsü (169kb)

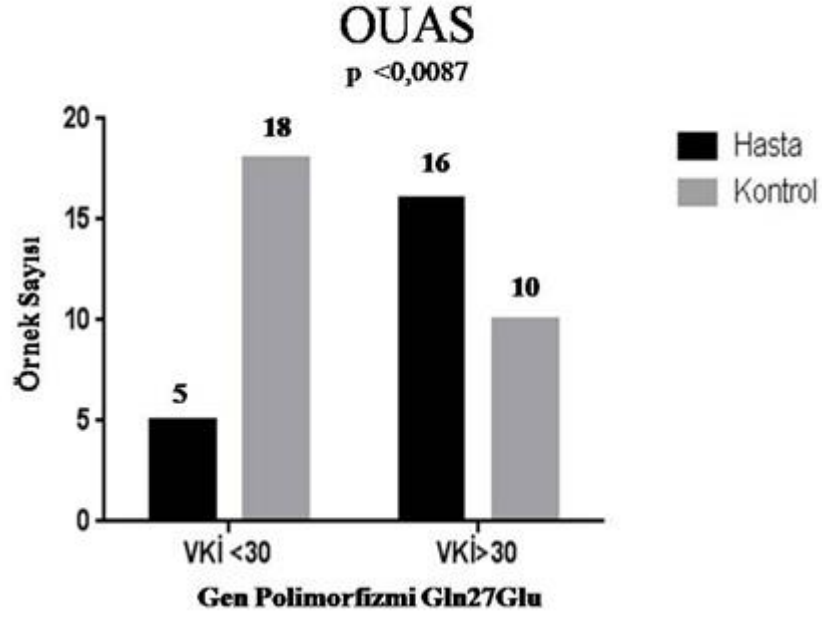


Şekil 4. 1 ADRβ2 Gln27Glu Polimorfizmi hasta ve kontrol grubunun grafiği

Çizelge 4. 3 ADRβ2 Gln27Glu Polimorfizmi hasta ve kontrol grubuna göre dağılımı

	Hasta	Kontrol	Toplam
SNP' li	21	28	49
SNP' siz	31	50	81
Toplam	52	78	130

İstatistiksel sonuçlara göre Gln27Glu polimorfizmi için P değerimiz 0.05'ten büyük olduğu için anlamlı bulunmadı.



Şekil 4. 2 ADRβ2 Gln27Glu polimorfizminin hasta ve kontroller vücut kitle indeks grafiği

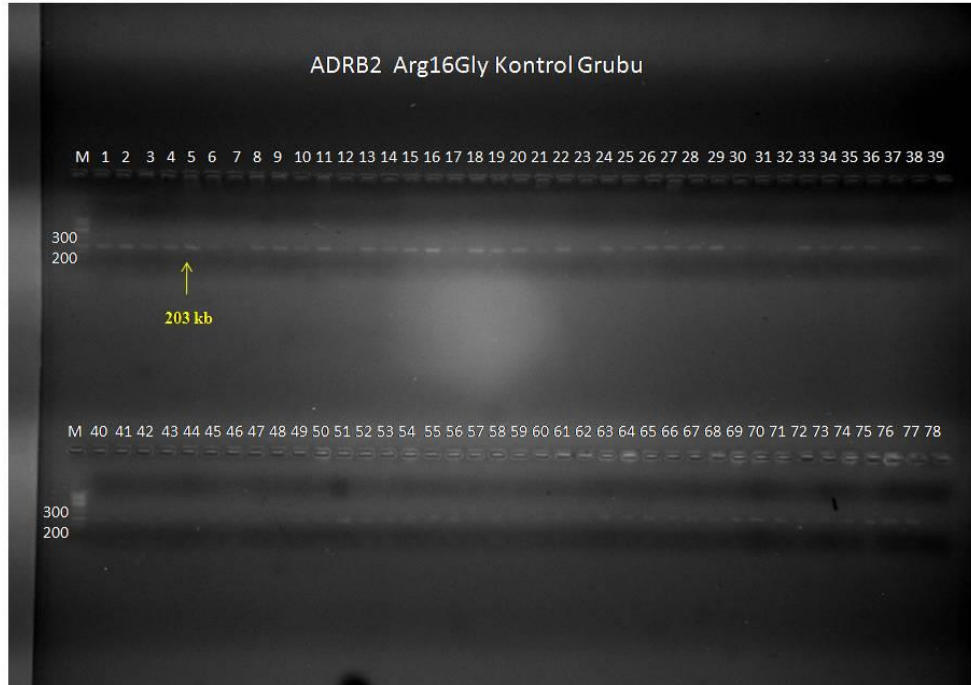
Çizelge 4. 4 ADRβ2 Gln27Glu polimorfizminin vücut kitle indeksine (VKİ) göre dağılımı

	Hasta	Kontrol	Toplam
VKİ <30	5	18	23
VKİ >30	16	10	26
Toplam	21	28	49

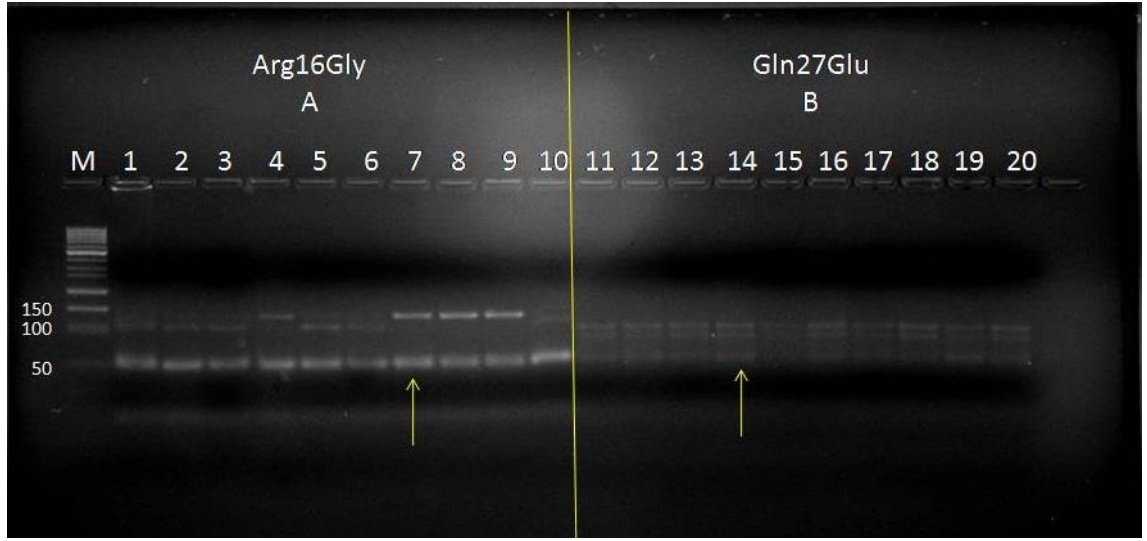
İstatistiksel sonuçlara göre Gln27Glu polimorfizminin VKİ'ye göre P değerimiz 0.05'ten küçük olduğu için anlamlı bulundu.



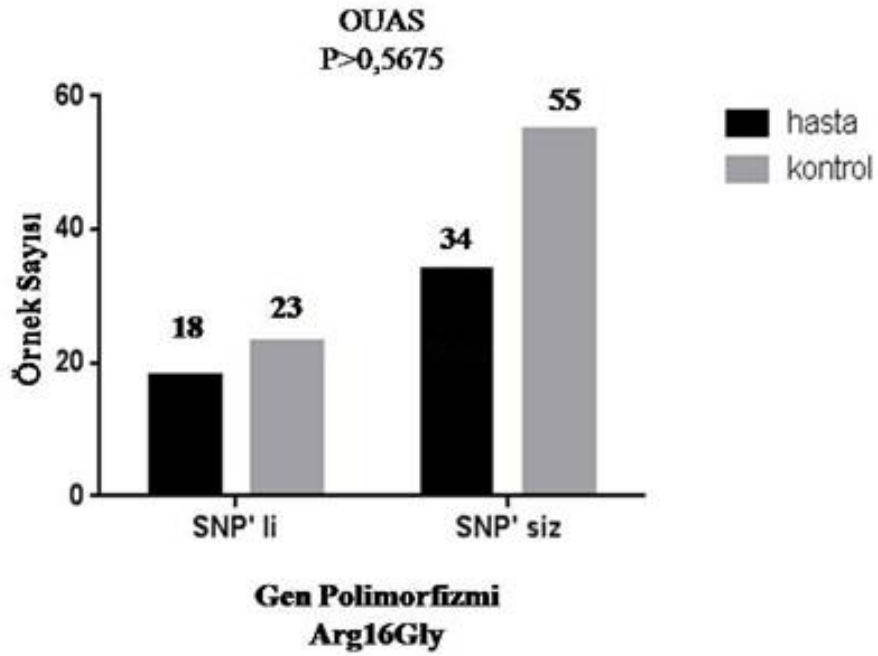
Resim 4. 3 ADR β 2 Arg16Gly geni PCR ürünleri hasta grubu jel görüntüsü(203 kb)



Resim 4. 4 ADR β 2 Arg16Gly geni PCR ürünleri kontrol grubu jel görüntüsü(203 kb)



Resim 4. 5 ADR β 2 geninin enzim kesim görüntüsü A) ADR β 2 Arg16Gly'nin BsrDI restriksiyon enzimi ile kesim görüntüsü B) ADR β 2 Gln27Glu'nun BstNI restriksiyon enzimi ile kesim görüntüsü

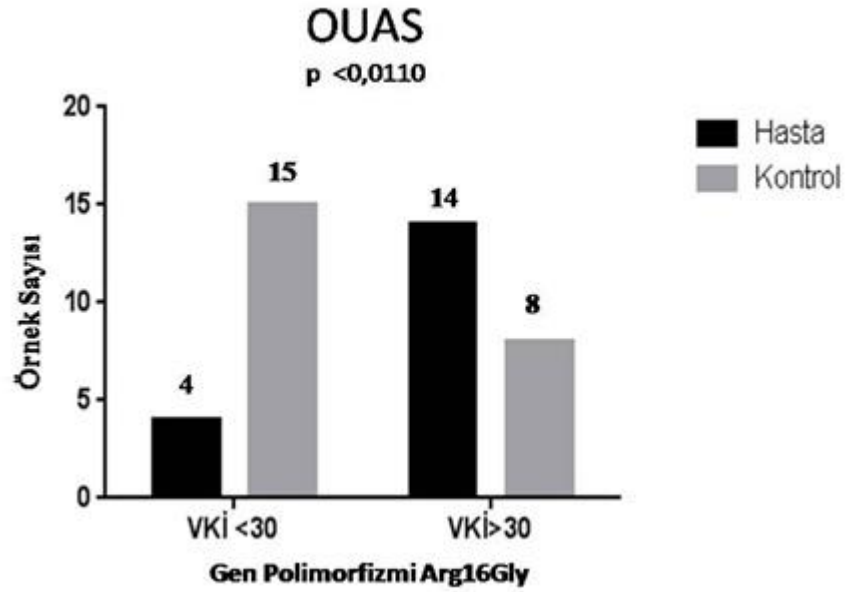


Şekil 4. 3 ADR β 2 Arg16Gly Polimorfizmi hasta ve kontrol grubunun grafiği

Çizelge 4. 5 ADR β 2 Arg16Gly Polimorfizmi hasta ve kontrol grubuna göre dağılımı

	Hasta	Kontrol	Toplam
SNP' li	18	23	41
SNP' siz	34	55	89
Toplam	52	78	130

İstatistiksel sonuçlara göre Arg16Gly polimorfizmi için P değerimiz 0.05'ten büyük olduğu için anlamlı bulunmadı.



Şekil 4. 4 ADR β 2 Arg16Gly polimorfizminin hasta ve kontroller VKİ grafiği

Çizelge 4. 6 ADR β 2 Arg16Gly polimorfizminin VKİ' ye göre dağılımı

	Hasta	Kontrol	Toplam
VKİ <30	4	15	19
VKİ >30	14	8	22
Toplam	18	23	41

İstatistiksel sonuçlara göre Arg16Gly polimorfizminin VKİ'ye göre P değerimiz 0.05'ten küçük olduğu için anlamlı bulundu.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Dünyanın değişik ülkelerinde OUAS klinik bulgular açısından farklılıklar göstermektedir ve vakalar daha çok 40-65 yaş arası yaygınlığı artmaktadır. Genel olarak popülasyonlarda bu hastalık erkeklerde %4 oranında, kadınlarda ise %2 oranında olduğu tespit edilmiştir [9]. Türkiye popülasyonunun ise yaklaşık %0.9-1.9'ünde uyku apne sendromu bulunmaktadır [2].

Son yıllarda OUAS'ın klinik tanı yöntemleri yanında genetik yönünün araştırmalarına önem verilmiş, şimdiye kadar bu hastalık ile ilgili pek çok gen ve polimorfizm bölgeleri tanımlanmıştır [63]. Solunuma bağlı hastalıkların oluşumundan sorumlu olan adrenerjik genler ve bu gen içinde yerleşen polimorfik bölgelerin çeşitliliği OUAS tanısında bir kriter olabileceği öngörülmüş ve genomik çalışmalar yapılmıştır. Ayrıca VKİ arttıkça adrenerjik gen polimorfizmlerindeki farklılıklar artmaktadır. Araştırmada Kars ili popülasyonunda polisomnografi sonuçlarına göre OUAS tanısı alan bireylerde Arg16Gly ve Gln27Glu polimorfizmlerinin dağılımı incelenmiştir. Çalışmaya dahil edilen OUAS'lı hastaların % 70'i 40 yaş üstü ve %62'si de VKİ 30'dan büyük olan vakaları içermektedir.

Large V. ve arkadaşlarının 1997 yılında İsveç'te yaptıkları çalışmada 140 kadından %50'sinin vücut yağ oranının 20 kg'dan fazla olduğunu belirtmişler. Gln27Glu polimorfizminin obezite için bir risk oluşturduğunu, Arg16Gly polimorfizminde ise Gly16 alleli taşıyanlarda $\beta 2$ adrenerjik reseptör fonksiyonu ile ilişkili olduğunu ancak obezite ile önemli ölçüde bir ilişki olmadığını bulmuşlardır [83]. Araştırmamız Large ve arkadaşlarının yaptığı araştırma ile Gln27Glu polimorfizmi ile uyumluluk içindedir. Ancak Arg16Gly polimorfizmi ile uyum göstermemektedir.

Maha H. D. ve arkadaşlarının 2012'de Suudi Arabistan'da yaptıkları çalışmada 329 bireyden 109'u erkek, 220'si kadın olan popülasyonu Arg16Gly polimorfizmi açısından incelemişlerdir. Bu popülasyondaki erkeklerin %32.1'i normal kilolu, %25.6'sı fazla kilolu, %42.2'si obez, kadınların %36.36'sı normal kilolu, %18.18'i fazla kilolu, %45.45'i ise obez bireylerden oluşur. Obez bireylerden, ilgili polimorfik bölgenin genotipik oranlarını sırasıyla erkeklerin %54.3'ünde AA, %19.56'sında AG, %26.1'inde GG genotipi, kadınların %51'inde AA, %20'sinde AG ve %29'unda GG

genotipi gözlemişlerdir. Bu çalışma sonucunda Arg16Gly polimorfizminin Suudi toplumlarda obezite gelişimi üzerinde etkili olabileceğini savunmuşlardır. Ancak çalışmanın sınırlarını genişleterek teyit edilmesi gerektiğini önermişlerdir [84].

Meirhaeghe A. ve arkadaşları 2000 yılında Fransa'da yaptıkları çalışmada, 419 erkek ve 417 kadından oluşan ve VKİ'si %39.9 olan popülasyonu incelemişlerdir. Çalışmalarında Gln27Glu'nun Gln27Gln genotipinin ve Arg16Gly' nin Arg16 alleli taşıyanlarının vücut kitle indeksinde artış olduğunu gözlemişlerdir. Sonuç olarak β 2 adrenerjik reseptör geninin Fransız erkeklerde obezite ile ilişkisi olduğunu savunmuşlardır [85].

İncelememizde Gln27Glu polimorfizmi taşıyan OUAS'lı 21 bireyden 16'sında (%76) ve Arg16Gly polimorfizmi taşıyan OUAS'lı 18 bireyden 10'unun (%78) VKİ değerinin 30'dan büyük olduğu gözlemlendi ve Maha ve arkadaşları, Meirhaeghe ve arkadaşlarının çalışmaları ile benzerlik göstermektedir.

Echwald S. M. Ve arkadaşlarının 1998 yılında Danimarka'da yaptıkları çalışmada 156 obez erkek ve 205 kişilik aynı cinsiyette kontrol grubunu incelemişlerdir. Obezlerde VKİ ortalamasını %35,4, kontrol gruplarında ise %26,4 bulmuşlardır. Popülasyonu oluşturan obez 156 erkekte %28,2'sinde Gln/Gln, %55,2'sinde Gln/Glu ve %16,6'sında ise Glu/Glu fenotipini gözlemişlerdir. Kontrol grubunda ise %33,7'sinde Gln/Gln, %50,7'sinde Gln/Glu, %15,62'sinde ise Glu/Glu fenotipini gözlemişlerdir. Bu istatistiksel verilere göre polimorfizm ile obezite arasındaki anlamlılık değerini $p>0,95$ bulmuşlardır. Yaptıkları bu çalışmada β 2 adrenerjik reseptör geni Gln27Glu genotipinin obezite ile ilişkisinin olmadığını savunmuşlardır [86]. Ancak bu araştırma Echwald ve arkadaşlarının tam tersine β 2 adrenerjik reseptör geninin obezite ile ilişkili olduğunu göstermektedir.

Sonuç olarak; çalışmamızda β 2 adrenerjik reseptör geninin Gln27Glu ve Arg16Gly polimorfizmlerinin OUAS ile doğrudan ilişkisinin olmadığı ancak OUAS'lı hastalarda ve kontrollerde VKİ'nin 30'un üzerinde olması durumunda obezite riskini artırabileceği görüşündeyiz.

KAYNAKLAR

- [1] Sengul, YS. vd.“The effect of exercise on obstructive sleep apnea: a randomized and controlled trial”, Sleep Breath DOI 10, 1007/s11325- 009-0311-1.
- [2] Kaplan, Ş.“Yetişkinlerde obstrüktif uyku apne sendromu (ouas) şiddeti ile fiziksel aktivite düzeyi ve vücut profili arasındaki ilişki”, Uzmanlık tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Spor Hekimliği Anabilim Dalı, Isparta, 2011.
- [3] Yılmaz, İ.“Ağır obstrüktif uyku apne sendromlu hastalarda cpap tedavisi ile ağız içi araç tedavisinin karşılaştırılması”, Uzmanlık tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Isparta, 2011.
- [4] Arıtürk Atılğan, Z. vd.“Tıkayıcı uyku apne sendromu ve kardiyovasküler sorunlar”, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kardiyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, 2011; 38(2):253-256.
- [5] Karakoç, T.“Osas tanısı ile cpap tedavisi alan hastalarda kompleks uyku apne sendrom sıklığı ve etkileyen faktörler ”, Uzmanlık tezi, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Kırıkkale, 2010.
- [6] Tilkian, AG.“Hemodynamics in sleep induced apnea: Studies During Wakefulness and Sleep ”, Ann Intern Med., 1976; 85: 714 .
- [7] Lugaresi, E. et al.“Effects of tracheotomy in hypersomnia with periodic respiration”, Rev Neurol (Paris), 1970;123(4):276-268.
- [8] Sullivan, CE. et al.“Reversal of obstructive sleep apnoea by continuous positive airway pressure applied through the nares”, Lancet, 1981;1:862-865.
- [9] Midilli, M.“Obstrüktif uyku apne sendromlu hastalarda pozitif havayolu basıncı tedavisine uyumu etkileyen faktörler”, İzmir, 2009.
- [10] Young, T. et al.“Menopausal status and sleep-disordered breathing in the Wisconsin Sleep Cohort Study. Am J Respir Crit Care Med”, 2003, May 1;167(9):1181-5.

- [11] Köktürk, O.“Obstrüktif uyku apne sendromu epidemiyolojisi”, Tüberküloz ve Toraks dergisi, 1998, 46(2): 193-201.
- [12] Young, T, et al.“The occurrence of sleep disordered breathing among middle-aged adults”, N Engl J Med ,1993;328:1230-5.
- [13] Kaparianos, A. et al.“Obstructive sleep apnoea syndrome and genes”, The Journal of Medicine, september 2006, 64(8).
- [14] İtil, O.“Uykuya Bağlı Solunum Hastalıkları”, III. Mesleki Gelişim Kursu, Bodrum, 2006;139-152.
- [15] Kiper, S.“Romatoid Artritli Hastalarda Uyku Kalitesinin Değerlendirilmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Afyon, 2008.
- [16] Bingöl, N.“Hemşirelerin Uyku Kalitesi, İş Doyumu Düzeyleri Arasındaki ilişkinin incelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas, 2006.
- [17] Karamanlı, H.“Obstrüktif uyku apnesi olan hastalarda pozitif hava yolu basınç tedavisinin oksidatif stres ve hava yolu inflamasyonu üzerine etkisi”, Uzmanlık tezi, Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara, 2011.
- [18] Gleeson, K. et al.“ White, The influence of increasing ventilatory effort on arousal from sleep”, Am Rev Respir Dis, 1990; 142: 295-300.
- [19] Hugelin, A. Cohen, MI.“The reticular activating system and respiratory regulation in the cat”, Ann N Y Acad Sci, 1963; 109:586-603.
- [20] Mirzioğlu, B.“Obstrüktif uyku apne sendromlu hastalarda tiroid fonksiyonlarının değerlendirilmesi ve vücut kitle indeksi'nin apne hipopne indeksi ile korelasyonu”, Uzmanlık tezi, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı, Diyarbakır, 2011.
- [21] Sarı, H.“Obstrüktif uyku apne sendromlu hastalarda vücut kitle indeksi ve boyun çevresi ölçümlerinin apne hipopne indeksiyle korelasyonu”, Uzmanlık Tezi, Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kulak Burun Boğaz Kliniği, İstanbul, 2008.

- [22] Lugaresi, E. Plazzi G. "Heavy snorer disease: from snoring to the sleep apnea syndrome-An overview", *Respiration*, 1997; 64: 11-4.
- [23] Hofstein, Victor. Mateika, Susan., "Cardiac arhythmias, snoring, and Sleep apnea", *Chest*, 1994; 106: 466-71.
- [24] Matthew, E. et al. "Sleep apnea and Panic attacks", *Comprehensive Psychiatry* 1991; 32: 130-2.
- [25] Franklin Karl, A. et al. "Sleep apnea and nocturnal angina", *Lancet*, 1995; 345: 1085-7.
- [26] Strohl, K. et al. "Recognition of obstructive sleep apnea. Am J. Respir", *Crit Care Med*, 1996; 154: 279-89.
- [27] Alişan, M. "Eskişehir ilinde bir yıl içerisinde sağlık kuruluşlarında polisomnografi ile OUAS tanısı alan hastaların sıklığının belirlenmesi", *Uzmanlık Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Nöroloji Anabilim Dalı*, 2012.
- [28] Naresh, M.P. "The epidemiology of adult obstructive sleep apnea", *Proc Am Thorac Soc*, 2008;5,136-143.
- [29] Bulut, M. "Obstrüktif uyku apne sendromu (OUAS) olan hastalarda oksidan-antioksidan durumlarının araştırılması", *Uzmanlık Tezi, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Nöroloji Anabilim Dalı, Gaziantep*, 2012.
- [30] Shamsuzzaman, AS. et al., "Obstructive sleep apnea: implications for cardiac and vascular disease", *JAMA*, 2003;290(14):1906-14.
- [31] Demirdöğen, E. "Obstrüktif uyku apne sendromlu hastalarda fibrinojen düzeylerinin değerlendirilmesi", *Uzmanlık Tezi, Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Anabilim Dalı, Bursa*, 2009.
- [32] Prentice, AM. "The emerging epidemic of obesity in developing countries", *Int J Epidemiol*, 2006, 35:93-9.

- [33] Schwab, RJ. et al., "Sleep apnea syndrome", In: Fishman P (ed), Pulmonary Disease and Disorders, 3rd edition, New York: McGraw-Hill Companies, 1998, 1671-37.
- [34] McNamara, SG. et al., "Obstructive sleep apnea", Thorax, 1993, 48:754-64.
- [35] Stradling, JR. Crosby, JH., "Predictors and prevalence of obstructive sleep apnoea and snoring in 1001 middle aged men", Thorax, 1991, 46:85-90.
- [36] Wetter, D.W. et al. "Smoking as a risk factor for sleep-disordered breathing.", Arch Intern Med, 1994, 154: 2219-24.
- [37] Tsutsumi, W. et al. "Influence of alcohol on respiratory disturbance during sleep", Psychiatry Clin Neurosci, 2000, 54: 332-3.
- [38] Redline, S. et al. "The familial aggregation of obstructive sleep apnea", Am J Respir Crit Care Med, 1995;151:682-687.
- [39] Strohl, K.P. et al. "Obstructive sleep apnea in family members", N Engl J Med, 1978.299(18):p.969-73.
- [40] Guilleminault, C. et al. "Familial aggregates in obstructive sleep apnea Syndrome", Chest, 1995.107(6): p.1545-51.
- [41] Ng, TP. et al., "Prevalence of snoring and sleep breathing-related disorders in Chinese, Malay and Indian adults in Singapore", Eur Respir J, 1998;198-203
- [42] Ip, M. S. et al. "A community study of sleep-disordered breathing in middle-aged chinese men in Hong Kong", Chest, 2001;119:62-9.
- [43] Stradling, JR. et al., "1: Obstructive sleep apnoea/hypopnoea syndrome: definitions, epidemiology and natural history", Thorax, 2004;59:73-78.

- [44] Çalışkan, N.S. “CÜTF Hastanesi’nde yatan hastalarda obstrüktif uyku apne sendromu (OUAS) semptom prevalansı”, Uzmanlık Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları ABD, Sivas, 2009.
- [45] Schwarb, R.J. “Sleep Apnea Syndromes. In: Fishman AP(ed). Fishman’s Pulmonary Disease and Disorders”, New York: McGraw-Hill Book Company, 1998: 1617-1637.
- [46] Köktürk O. Ulukavak Çiftçi T. “Obstrüktif uyku apne sendromu ile ilişkili hastalıkları”, Tüberküloz ve Toraks Dergisi 2002; 50: 104-118.
- [47] Çalışkan, NS. “CÜTF hastanesi’nde yatan hastalarda obstrüktif uyku apne sendromu (OUAS) semptom prevalansı”, Uzmanlık Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları ABD, Sivas, 2009.
- [48] Kaplan, Ş. “Yetişkinlerde obstrüktif uyku apne sendromu (OUAS) şiddeti ile fiziksel aktivite düzeyi ve vücut profili arasındaki ilişki”, Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Spor Hekimliği ABD, Isparta, 2011
- [49] www. Uptodate.com (Erişim Tarihi 2.Şubat.2013).
- [50] Chervin, RD. “Sleepiness, fatigue, tiredness and lack of energy in obstructive sleep apnea”, Chest, 2000 ; 118 : 372.
- [51] Johns, M. “Daytime sleepiness, snoring and obstructive sleep apnea: The Epworth sleepiness scale”, Chest, 1993; 103: 30.
- [52] http://ekutuphane.tusak.gov.tr/kitaplar/genetik_hastaliklar_saglik_personeli_icin_el_kitabi.pdf (Erişim Tarihi: 24.Ocak.2013).
- [53] Guilleminault, C. et al. “Familial aggregates in obstructive sleep apnea syndrome”, Chest, [107], 1545-1551, 1995.
- [54] http://www.teb.org.tr/images/upld2/ecza_akademi/makale/20110113034339Farmakogenetik.pdf (Erişim Tarihi: 27.Ocak.2013).

- [55] Ağatekin, E.“Mitral valv prolapsusu (MVP) gözlenen olgularda beta-1 adrenerjik reseptör (ADRbeta1), beta-2 adrenerjik reseptör (ADRBeta2) ve Gs- proteini gen polimorfizmlerinin etkilerinin araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji ABD, İzmir, 2007.
- [56] yunus.hacettepe.edu.tr/~mergen/derleme/d_geneticdisease.pdf (Erişim Tarihi: 29.Ocak.2013).
- [57] Sherry, ST. et al.,“dbSNP:the NCBI database of genetic variaton”, Nucleic Acids Res., 2001;29,308-311.
- [58] Stollerman, GH.“Rheumatogenetic streptococci and autoimmunity”, Clin Immunol Immunopathol, 1991;61:131-42.
- [59] Manon, R. et al.“Familial sleep apnea plus syndrome report of family”, Neurology, 1 February ,1988;38(2):190.
- [60] Kaprio, J. et al.“A twin study of snoring”, Sleep Res, 1988;17:365.
- [61] El-Bayadi, S. et al.“A family study of sleep apnea:anatomic and physiologic interactions ”, Chest, 1990;98:554-9.
- [62] Ferrini, L. et al.“Snoring in twins”, Respiratory Medicine, 1995;89:337-340.
- [63] Larkin, EK. et al.,“A candidate gene study of obstructive sleep apnea in European Americans and African Americans”, Am J Respir Crit Care Med, 2010;182:947-53.
- [64] Mokhlesi, B.“Update in sleep medicine 2010”, Am J Respir Crit Care Med, 2011;183:1472-6.
- [65] Türkiye Klinikleri, J Int Med Sci, 2005, 1(3):93-96.
- [66] <http://ardb.bjmu.edu.cn/default.htm> (Erişim Tarihi: 1.Şubat.2013).
- [67] <http://genome.ucsc.edu/> (Erişim Tarihi: 1.Şubat.2013).

- [68] Leineweber, K. et al. "β-Adrenoceptor polymorphism", *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2004;369:1-22.
- [69] Richard, E. et al. "Beta-Adrenoceptor Antagonists (Beta-Blockers)", *Cardiovascular Physiology Concepts*.
- [70] Fragoso, JM. et al. "β1-adrenergic receptor gene polymorphisms in Mexican patients with idiopathic dilated cardiomyopathy", *Experimental and Molecular Pathology*, 2006;279-282.
- [71] Yang-Feng, TL. et al. "Chromosomal organization of adrenergic receptor genes", *Proc Natl Acad Sci, USA*, 1990;87:1516-1520.
- [72] Frielle, T. et al. "Cloning of the cDNA for the human beta 1-adrenergic receptor", *Proc Natl Acad Sci, USA*, 1987;84:7920-7924.
- [73] Podlowski, S. et al. "Beta1-adrenoceptor gene variations: a role in idiopathic dilated cardiomyopathy?", *J Mol Med*, 2000;78:87-93.
- [74] Zhao-qian, LIU. et al. "Distributive characteristics of Ser49Gly and Arg389Gly genetic polymorphisms of β1-adrenoceptor in Chinese Han and Dai populations", *Acta Pharmacologica Sinica*, 2006;27:254-258.
- [75] <http://www.ensembl.org> (Erişim Tarihi: 5.Şubat.2013).
- [76] Brodde, OE, et al. "β2- adrenoceptor gene polymorphisms", *Pharmacogenet Genomics*, 2005;15:267-275.
- [77] Covolo, L. et al. "Role of beta-1 and beta-2 adrenoceptor polymorphisms in heart failure: a case-control study", *Eur Heart J*, 2004;25:1534-1541.
- [78] Johnson, M. "Beta-2 adrenoceptors: mechanisms of action of beta2-agonists", *Paediatr Respir Rev*, 2001;2:57-62.
- [79] Stolerman, GH. "Rheumatogenic streptococci and autoimmunity", *Clin Immunol Immunopathol*, 1991;61:131-42.

[80] Tay, A.“Deneysel diabetin ratlarda β 3-adrenoseptörler üzerindeki etkileri”, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi, Farmakoloji ABD, Ankara, 2006.

[81] Birben, E.“Polimeraz zincir reaksiyonu (Polymerase Chain Reaction (PCR))”, Astım Allerji İmmünoloji 2006;4(2):92-94.

[82] Birben. E.“Polimeraz zincir reaksiyonu-restriksiyon parça uzunluğu polimorfizmi (PCR-RFLP) DNA’nın restriksiyon endonükleazlar ile kesimi”, Astım Alerji İmmünoloji 2007;5(1):53-55.

[83] Large, V et al.“Human beta- 2 adrenoceptor gene polymorphisms are highly frequent in obesity and associate with altered adipocyte beta-2 adrenoceptor function”, Journal of Clinical Investigation, 1997;100(12):3005-3013.

[84] Maha, H. D. et al.“Arginine 16 Glycine Polymorphism in β 2-Adrenergic Receptor Gene Is Associated with Obesity, Hyperlipidemia, Hyperleptinemia, and Insulin Resistance in Saudis”, International Journal of Endocrinology Volume 2012, Article ID 945608, 8 pages doi:10.1155/2012/945608.

[85] Meirhaeghe A. et al.“Impact of polymorphisms of the human beta2-adrenoceptor gene on obesity in a French population”, Int J Relat Metab Disord, 2000 Mar;24(3):382-7.

[86] Echwald S. M. et al.“Gln27Glu Variant of the Human β 2-Adrenergic Receptor Gene Is Associated with Early-Onset obesity in Danish Men”, Diabets, vol:47, Ekim, 1998.

7. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: İlknur ÇELEBİ

Doğum Yeri: Kayseri

Doğum Tarihi: 1986

Medeni Hali: Bekar

Yabancı Dili: İngilizce

Eğitim Durumu

Lise: Talas Lisesi 2001-2003

Lisans: Kafkas Üniversitesi Biyoloji Bölümü 2005-2009

Yüksek Lisans: Kafkas Üniversitesi Moleküler Biyoloji Bölümü 2010-