

**SARKOİDOZ TANILI HASTALARDA CCR2 GENİNİN YENİ
NESİL DİZİ ANALİZİ İLE TARANMASI**

Pınar YILDIZ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**DANIŞMAN
PROF. DR. Recep ERÖZ**

DÜZCE, 2023

T.C.
DÜZCE ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

SARKOİDOZ TANILI HASTALARDA CCR2 GENİNİN YENİ
NESİL DİZİ ANALİZİ İLE TARANMASI

Pınar YILDIZ tarafından hazırlanan tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından Düzce Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Recep ERÖZ

Aksaray Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD.

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Recep Eröz

Aksaray Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik AD.

Doç. Dr. Görkem DÜLGER

Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD.

Dr. Öğr. Üyesi İlker Kılıçcıoğlu

Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik AD.

Tez Savunma Tarihi: 23/06/2023

BEYAN

Bu yaptığım tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazım aşamasına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki tüm bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak göstererek bunları kaynaklar listesine eklediğimi, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici herhangi bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Bu tez Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Komisyonu Başkanlığı tarafından 2022.04.03.1329 numaralı proje ile desteklenmiştir.

23/06/2023

Pınar Yıldız

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimin ve tüm akademik hayatım süresince değerli bilgilerini ve deneyimlerini benimle paylaşarak eğitime katkıda bulunan, tez çalışmamın tüm aşamalarında bana her daim yol gösteren; ortak çalışmaktan gurur duyduğum hocam sayın Prof. Dr. Recep ERÖZ'e, misafir perverliği ile birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm nezaketi ile öğrencisi olmaktan her zaman mutluluk duyduğum değerli hocam sayın Prof. Dr. Hüseyin YÜCE'ye, eğitim süresince zorlandığım her aşamada gerek dinleyerek, gerek tüm çabasını göstererek sürecin sonuna gelmemde emeği büyük olan değerli hocam; sayın Doç. Dr. Görkem DÜLGER'e ve yüksek lisans tezime katkı sağlayan materyal ve örneklerin temini konusunda bana yardımcı olan ve desteklerini üzerimde her zaman hissettiğim Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları AD'na teşekkür ederim.

Çalışma sürecinde tüm zorlukları aşmamda bana yardımcı olan ve hayatımın her döneminde desteklerini benden esirgemeyen sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

23/06/2023

Pınar YILDIZ

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
TABLolar LİSTESİ	viii
KISALTMALAR	ix
ÖZET	x
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. SARKOİDOZ TARİHÇESİ	3
2.2. SARKOİDOZDA EPİDEMİYOLOJİ	3
2.3. SARKOİDOZDA ETİYOLOJİ VE PATOGENEZ	4
2.3.1. Genetik Faktörler	4
2.3.2. Çevresel Faktörler	6
2.3.3. İmmunopatogenez	6
2.4. SARKOİDOZDA KLİNİK BULGULAR	7
2.4.1. İntratorasik Bulgular	8
2.4.2. Ekstratorasik Bulgular	8
2.4.2.1. Lenf Nodu Tutulumu	8
2.4.2.2. Göz Tutulumu.....	8
2.4.2.3. Cilt Bulguları	9
2.4.2.4. Kas ve İskelet Sistemi Tutulumu.....	9
2.4.2.5. Böbrek Tutulumu.....	9
2.4.2.6. Kalp Tutulumu.....	10
2.4.2.7. Nörolojik Tutulum	10
2.4.2.8. Karaciğer ve Gastrointestinal Sistem Tutulumu.....	10
2.5. SARKOİDOZDA TANI	11
2.6. SARKOİDOZUN AYIRICI TANISI	13
2.7. SARKOİDOZDA TEDAVİ	15
2.8. KEMOKİN AİLESİ	17
2.8.1 Kemokin Reseptörleri	18
2.8.1.1. CC Kemokin Reseptör 2 (CCR2).....	18
2.8.1.2. CC Kemokin Reseptör 2 (CCR2) Hastalardaki Rolü:	19
2.9. YENİ NESİL DİZİLEME (YND) ÇEŞİTLERİ	19

3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1.ARAŞTIRMA TİPİ, YERİ VE HASTALARIN SEÇİMİ	22
3.2.ARAŞTIRMAYA DAHİL OLMA KRİTERLERİ	22
3.3.ARAŞTIRMAYA DAHİL OLMAMA KRİTERLERİ	22
3.4.ARAŞTIRMANIN GENEL PLANI	22
3.5.CCR2 (NM_001123396.4) TÜM GEN DIZI ANALIZI	23
3.5.1.Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	23
3.5.2.DNA İzolasyonu	24
3.5.3.Primerlerin Tasarımı	25
3.5.4. Çalışma Stratejisi	25
3.5.5. PCR	25
3.5.6. Yeni Nesil Dizi Analizi ve Çalışma Prensipleri	26
3.5.7.Nextera Protokol	28
3.5.7.1 PCR Amplifikasyonu.....	28
3.5.7.2.DNA Tagmentasyonu.....	28
3.5.7.3.İndeks PCR	29
3.5.7.4.PCR Purifikasyonu.....	29
3.5.7.5.Kütüphane Havuzlama ve Miseq Cihazına Yükleme.....	29
3.5.7.5. Analiz.....	29
3.6.İSTATİKSEL ANALİZ	29
4. BULGULAR	30
4.1.DEMOGRAFİK BULGULAR	30
4.2.KLİNİK BULGULAR	30
4.3.LABORATUVAR BULGULARI	31
4.4.CCR2 (NM_001123396.4) GENİNDE YND SONUCU ELDE EDİLEN BULGULAR	32
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	38
6. KAYNAKLAR	43

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1 Bilateral Hiler Lenfadenopati ve Parankimal İnfiltrasyon.....	12
Şekil 2 Santralden perifere uzanan, peribronkovasküler konsolidasyon, peripronşial kalınlaşöa mikronodül, septal kalınlaşma, milimetrik nodüller	13
Şekil 3 YND akış şeması.....	28
Şekil 4 Hasta ve kontrol grubunun CCR2 (NM_001123396.4) geninde tespit edilen genotip 1 varyasyonlarının dağılımı.....	33
Şekil 5 Hasta ve kontrol grubunun CCR2 (NM_001123396.4) geninde tespit edilen genotip 2 varyasyonlarının dağılımı.....	33
Şekil 6 Hasta ve kontrol grubunun CCR2 (NM_001123396.4) geninde tespit edilen genotip 1 varyasyonlarının zigosite durumu.....	35
Şekil 7 Hasta ve kontrol grubunun CCR2 (NM_001123396.4) geninde tespit edilen genotip 2 varyasyonlarının zigosite durumu.....	36
Şekil 8 Hasta ve Kontrol Grubunda CCR2 (NM_001123396.4) Gen varyasyonlarının homozigot/bileşik heterozigot, heterozigot ve varyasyon yok durumu	37

TABLolar LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1 Sarkoidoz ayırıcı tanısında yer alan enfeksiyon ve enfeksiyon dışı durumlar...	14
Tablo 2 PCR reaksiyon içeriği	26
Tablo 3 Yapılacak olan PCR döngü sayısı ve koşullarında.....	26
Tablo 4 Hasta grubunun evre ve tutulum durumu	30
Tablo 5 Hasta ve Kontrol Grubunda KAH, DM, KBY, Hipotiroidi ve Astım Durumu .	31
Tablo 6 Her bir grubun demografik özellikleri ve laboratuvar bulguları	31
Tablo 7 Hasta ve kontrol grubunun CCR2 (NM_001123396.4) geninde tespit edilen varyasyonlara göre kıyaslaması	32
Tablo 8 Hasta ve kontrol grubunda CCR2 (NM_001123396.4) geninde tespit edilen varyasyonların zigositeye göre durumu.....	34
Tablo 9 Hasta ve kontrol grubunda CCR2 (NM_001123396.4) geni genotip 1 ve 2'nin zigosite durumu	36
Tablo 10 Hasta ve Kontrol Grubunda CCR2 (NM_001123396.4) Gen varyasyonlarının homozigot/bileşik heterozigot, heterozigot durumuna göre kıyaslaması	36

KISALTMALAR

ACCESS: A Case Control Etiologic Study of Sarcoidosis

BAL: Bronkoalveolar lavaj

CCL2: C-C motif ligand 2

CCR2: CC Kemokin Reseptör 2

CC: cys-cys

CXC: cys-X-cys

HLA: Human Leukocyte Antigen

MAGI1: membranla ilişkili guanilat kinaz WW ve PDZ alanı içeren protein 1

MCP-1: Monosit kemoatraktan protein-1

NGS: Next-generation sequencing

PCR: Polimeraz zincir reaksiyonu

TLR: Toll-like receptor

YND: Yeni nesil dizileme

WASOG: The World Association of Sarcoidosis and Other Granulomatous Disorders

ÖZET

SARKOİDOZ TANILI HASTALARDA *CCR2* GENİNİN YENİ NESİL DİZİ ANALİZİ İLE TARANMASI

Pınar Yıldız

Düzce Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışmanı: Prof. Dr. Recep ERÖZ

Haziran, 2023, 55 sayfa

Sarkoidoz, granülom oluşumuyla sonuçlanan hastalık bölgelerinde mononükleer hücrelerin birikmesi ile karakterize edilen, nedeni bilinmeyen bir multisistem hastalıdır. Hastalığın, genetik olarak yatkın konakçılarda bilinmeyen çevresel antijenler tarafından tetiklendiği düşünülmektedir. Biz bu çalışmada sarkoidoz tanılı hastalarda *CCR2* geninin yeni nesil dizi analizi(YND) ile taranmasını amaçladık. Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Kliniği'nde sarkoidoz tanısı ile takip edilen 31 hasta ile sarkoidoz dışı bir nedenle başvurmuş 19 kontrol dahil edilmiştir. Mevcut çalışmamıza 35'si (%70) erkek, 15'i (%30) bayan olmak üzere toplam 50 birey dahil edilmiştir. Hasta grubunda 24(%77,4) kadın ve 7(%22,6) erkek varken, kontrol grubunda 11(%57,9) kadın ve 8(%53,3) erkek vardı ($\chi^2=2,138$; $p=0,144$). Çalışmamızda; *CCR2* (NM_001123396.4) geninde hasta ve kontrol grubunda tespit edilen varyasyonlar sırasıyla NM_001123396.4:c.1044G>A(p.Thr348=)(rs3092960) (Hasta:3, Kontrol:3), NM_001123396.4(*CCR2*):c.156G>T(p.Val52=)(rs3918367) (Hasta:2, Kontrol:0), NM_001123396.4(*CCR2*):c.190G>A(p.Val64Ile)(rs1799864) (Hasta: 8, Kontrol:6), NM_001123396.4:c.780T>C(p.Asn260=)(rs1799865) (Hasta: 24, Kontrol:8) olarak bulundu.

Sonuç olarak NM_001123396.4(*CCR2*):c.156G>T(p.Val52=)(rs3918367) ve NM_001123396.4:c.780T>C(p.Asn260=)(rs1799865) varyasyonları hasta grubunda kontrol grubundan anlamlı derecede yüksekti ($p<0,05$). Tespit edilen bu *CCR2* varyasyonların sarkoidozun etyopatogenezisindeki rolünün daha iyi anlaşılabilmesi için *CCR2* geninin YND ile tarandığı geçmiş serileri içeren ilave çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: genetik, granülom, sarkoidoz, yeni nesil dizi analizi.

ABSTRACT
**SCREENING OF *CCR2* GENE IN SARCOIDOSIS PATIENTS WITH
NEXT GENERATION SEQUENCE ANALYSIS**

Pınar YILDIZ

Duzce University
Graduate School, Department of Medical Biology and Genetics

Master Thesis

Haziran, 2023, 55 pages

Supervisor: Prof. Dr. Recep ERÖZ

Sarcoidosis is a multisystem disease of unknown cause characterized by the accumulation of mononuclear cells at disease sites resulting in granuloma formation. The disease is thought to be triggered by unknown environmental antigens in genetically predisposed hosts. In this study, we aimed to screen the *CCR2* gene in patients diagnosed with sarcoidosis by next generation sequence analysis. 31 patients who were followed up with a diagnosis of sarcoidosis in the Chest Diseases Clinic of Düzce University Faculty of Medicine and 19 controls admitted for a non-sarcoidosis reason were included. A total of 50 individuals, 35 (70%) males and 15 (30%) females, were included in the present study. There were 24 (77.4%) females and 7 (22.6%) males in the patient group, while there were 11 (57.9%) females and 8 (53.3%) males in the control group ($\chi^2=2.138$; $p=0.144$). In our study; The Detected *CCR2* (NM_001123396.4) variations in the patient and control groups were NM_001123396.4:c.1044G>A(p.Thr348=)(rs3092960) (Patient:3, Control:3), NM_001123396.4(*CCR2*): c.156G>T(p.Val52=)(rs3918367) (Patient:2, Control:0), NM_001123396.4(*CCR2*):c.190G>A(p.Val64Ile)(rs1799864) (Patient: 8, Control :6), NM_001123396.4:c.780T>C(p.Asn260=)(rs1799865) (Patient: 24, Control:8), respectively.

As a result, the NM_001123396.4(*CCR2*):c.156G>T(p.Val52=)(rs3918367) and NM_001123396.4:c.780T>C(p.Asn260=)(rs1799865) variations were significantly higher in the patient group than the control group.($p<0.05$). In order to better understand the role of these detected *CCR2* variations in the etiopathogenesis of sarcoidosis, additional studies are needed, including larger series in which the *CCR2* gene was sequenced by NGS.

Keywords: Genetics, granuloma, sarcoidosis, next generation sequence analysis.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sarkoidoz, etiyojisi belirsiz olan ve sistemik granümatöz bir hastalıktır. Bu hastalık genellikle toraks içi lenf nodları ve akciğerleri etkiler, ancak herhangi bir organı tutabilir. Sarkoidozun insidansı ve prevalansı hakkında kesin bilgiler bulunmamaktadır. Dünya genelinde her iki cinste ve her yaş grubunda görülebilir, ancak bazı toplumlarda ve yaş gruplarında daha sık rastlanır. İskandinavlar ve Afrika kökenli Amerikalılar sarkoidozun en sık görüldüğü toplumlar arasındadır. Türkiye'de yapılan bir kayıt çalışmasında yıllık insidansın 100.000 kişide 4 olduğu belirlenmiştir. Sarkoidozun küresel sağlık etkileri tam olarak bilinmemektedir, ancak yeni kanıtlar, hastalığın tahmin edilenden daha yaygın olduğunu ve sarkoidozlu hastalar arasında ölüm oranının bazı hasta gruplarında daha yüksek olduğunu göstermektedir. Sarkoidozun nedeni tam olarak anlaşılamamıştır. Hem genetik yatkınlığın hem de çevresel etkenlerin hastalığın gelişiminde rol oynadığı kabul edilmektedir. Sarkoidozun genetik yönüyle ilgili olarak HLA (Human Leukocyte Antigen) ve HLA dışındaki birçok genin varyantlarıyla ilgili çalışmalar yapılmıştır. Bazı genetik özellikler, sarkoidoz sıklığı, hastalığın seyri ve prognozuyla ilişkili bulunmuştur. Örneğin, HLA-DQB10201 ve HLA-DRB10301 genleri, akut sarkoidoz ve iyi prognozla ilişkilidir. İnsan genom projesinin tamamlanmasıyla birlikte postgenomik alanda önemli gelişmeler yaşanmış ve sistem biyolojisi yaklaşımı önem kazanmıştır. Yeni nesil DNA dizileme teknolojisi, genetik/epigenetik düzenleyici ağlar, kromatin yapısı, nükleer yapılanma ve genom varyasyonları hakkında bilgi üretmek için kullanılan bir araçtır. Bu teknoloji sayesinde bir örneğin milyonlarca parçası aynı anda ve paralel olarak işlenebilir. Yeni nesil dizileme teknolojileri, genetik heterojenite gösteren hastalıkların etiyojisini belirlemek için tüm genom veya hedefe yönelik paneller üzerinde çok sayıda genin aynı anda dizilenmesini sağlar. Yeni nesil dizi analizleri, fenotipik ve genotipik heterojenite gösteren hastalıkların genetik temelini anlamamızı sağlar. Sarkoidoz hastalığında HLA'ya ek olarak, apoptotik, enzimatik, düz

enleyici, immün ve enflamatuar fonksiyonlara sahip diğer genler, sarkoidozda aday lokuslar olarak dahil edilmiştir. Bu, rneđin, şunlardır ANXA11, ACE, *CCR2*, *CCR5*, IL1A, IL23R, NOD2 ve NRAMP1. Bu genler sarkoidozda nadiren çalışılmıştır. Bu tezin amacı nedeni tam olarak bilinmeyen genetik ve çevresel etkenlerin araştırıldığı sarkoidoz hastalarında; *CCR2* geninin yeni nesil dizi analizi ile taranmasını araştırmaktır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. SARKOİDOZ TARİHÇESİ

Bir asırdan uzun bir süre önce, cerrah-dermatolog J. Hutchinson, King's College Hastanesi'nde (Londra, Birleşik Krallık) ilk sarkoidoz vakasını tanımlamıştır. On dokuzuncu yüzyılın başından önceki ve sonraki on yıllarda, birçok yayın birbirinden bağımsız olarak günümüzde sarkoidoz olarak kabul edilen hastalığa dikkat çekmiştir. Bu eğilim yirminci yüzyılın ikinci yarısında önemli bir ivme kazanmış ve yirmi birinci yüzyılın ilk yıllarında da durmaksızın devam etmiştir [1].

1899'da Caeser Boeck cilt lezyonlarını sarkoma benzetmiş ve bu lezyonların benign olmaları nedeniyle 'sarkoid' olarak tanımlamıştır [2].

Zaman içerisinde görülmüş ki; sarkoidozda cilt tutulumlarının yanında birçok organda da tutulumu da gelişmektedir. Sarkoidozun ilk kez sistemik bir hastalık olduğunu 1914 yılında Jörger Nilsen Schaumann tanımlamıştır. Ansgar Kveim ise 1941 yılında hastalardan alınan sarkoid homojenatinin hasta olduğu düşünülen kişilere intradermal enjeksiyonunun ardından epiteloid hücre granülomları içeren papüller çıktığını, kontrol grubunda ise değişiklik olmadığını saptamıştır. Louis Siltzbach ise; partikül süspansiyonlarının saflaştırılması ve testin standardizasyonuna katkı sunarak kendi isimleriyle anılan Kveim-Siltzbach testini tanımlamıştır. 1940-1950 yılları arasında Sven Löfgren, poliartrit, eritema nodosum, ateş ve bilateral hiler lenfadenopatiden oluşan ve Löfgren adıyla anılan sendromu tariflemiştir 1963'de Uluslararası Sarkoidoz Komitesi (International Committee on Sarcoidosis) kurulmuştur. 1987'de ise "The World Association of Sarcoidosis and Other Granulomatous Disorders" (WASOG) adıyla yeni bir komisyon kurulmuştur ve günümüzde WASOG kuruluşu aktif olarak görev yapmaktadır [3], [4].

2.2. SARKOİDOZDA EPİDEMİYOLOJİ

Sarkoidozun yaygınlığı dünya genelinde farklılık gösterir. İskandinav ülkeleri (İsveç, Danimarka vb.) ve Afro-Amerikalılar gibi bazı ülkelerde hastalığın daha sık görüldüğü bildirilmiştir. Ancak Asyalılar ve Japonlar arasında daha az yaygın olduğu gözlemlenmiştir. Etnik ve coğrafi faktörler, hastalığın sıklığını etkileyebilir. Hastalığın ortaya çıkmasında genetik yatkınlığa sahip bireylerde bazı etiyolojik faktörlerin de rol oynadığı düşünülmektedir [5].

Yıllık insidans oranının 100.000 kişide 0,1 ile 81 arasında değiştiği ve prevalans oranının da 100.000 kişide 0,1 ile 640 arasında değiştiği belirtilmiştir. Bu geniş aralığın nedeni, hastalığın tanısının zor olması ve epidemiyolojik araştırmalarda farklı yöntemlerin kullanılmasıdır. Ülkemizde yapılan bir çalışmada Müsellim B. ve ekibi, hastalığın insidansının 100.000 kişide 4 olduğunu belirlemiş ve bu değerini Avrupa ülkelerine yakın olduğunu göstermiştir [6]. Sarkoidoz her yaşta görülebilir, ancak bazı yaş gruplarında daha sık rastlanır. Genellikle 20-40 yaş arasında genç erişkinlerde daha sık görüldüğü kabul edilmektedir. Ülkemizde kadın/erkek oranı 2 olarak bulunmuştur. Bu oran diğer ülkelerde de kadınlar lehine bulunmaktadır [7].

Sarkoidoz genelde benign bir hastalık olarak kabul edilmektedir ancak düşük oranda (%1-5) mortaliteye neden olabilmektedir. Solunum yetmezliği, kardiyovasküler hastalıklar ve enfeksiyon hastalıkları ana ölüm nedenleri arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Hastalığın kronikleşmesi, eşlik eden komorbiditeler, kullanılan sitotoksik ve biyolojik ajanlar da mortaliteye katkıda bulunmaktadır [5].

2.3. SARKOİDOZDA ETİYOLOJİ VE PATOGENEZ

Hastalığın etiyoloji ve patogenezi henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Genetik faktörler, mevsimsel ve çevresel faktörler yapılan çalışmalarda sorumlu tutulmuştur. Bulgular; genetik duyarlılığı olan kişilerde bazı spesifik çevresel maddeler ile karşılaşması sonucunda hastalığın ortaya çıktığını düşündürmektedir.

2. 3. 1. Genetik Faktörler

Sarkoidoz; çeşitli gen varyantları farklı fenotipler, prognoz ve terapötik yanıtları olan poligenik bir hastalıktır.

ACCESS (A Case Control Etiologic Study of Sarcoidosis) çalışması [8]; sarkoidozun etiyolojisini araştıran çok merkezli bir çalışmadır. ACCESS sarkoidozlu olguların birinci ve ikinci derece akrabalarında ve aile bireylerinde sarkoidoz görülme sıklığının anlamlı olarak yüksek olduğunu göstermiştir. Ayrıca Danimarkalı ve Finlandiyalı popülasyonda ikiz 210 hasta üzerinde yapılan çalışmada, dizigotik ikizlerde sarkoidoz riskinin 7 kat arttığı monozigot ikizlerde ise 80 kat arttığı gösterilmiştir [9].

İki çalışma, sarkoidoz hastalarının oküler hastalık geliştirmeye yatkınlığında genetik faktörlerin rolünü değerlendirmiştir. Garman ve çalışma arkadaşları, oküler sarkoidozlu (OS) Afrikalı-Amerikalı (AA) ve Avrupalı-Amerikalı (EA) hastalardan ve sağlıklı kontrollerden (sırasıyla n=260 ve n=35 vs. n=1551 ve n=2046) oluşan etnik çeşitliliğe

sahip bir kohortta ilk enome-wide association studies (GWAS) 'yi gerçekleştirmiştir [10]. Yazarlar, EA'da OS ile HLA-DRB1*04:01 arasında - soylara özgü olduğu tespit edilen bir ilişki - ve AA'da bir bütün olarak sarkoidoz ile HLA-DRB1*03:01, HLA-DRB1*11:01 ve HLA-DRB1*12:01 alelleri arasında daha önce bildirilen ilişkileri doğrulamıştır. Sekiz HLA dışı varyant da AA'da OS ile ilişkilendirilmiştir; bunlardan yedisi, epitelyal bariyerin bütünlüğünü sağladığı lens ve retina dahil olmak üzere birçok dokuda ifade edilen bir iskele proteini olan MAGI1 (membranla ilişkili guanilat kinaz WW ve PDZ alanı içeren protein 1) içinde yer almaktadır [11].

Schürmann ve ark. [12] 63'ü Alman olan 138 birey üzerinde yaptıkları çalışmalarında mikrosatellite işaretleme yöntemi kullanarak genomun hastalık ile ilişkisini araştırmıştır. Çalışma sonucunda, 6. kromozomun kısa kolunda bulunan MHC (Major Histocompatibility Complex) klas II bölgesinin hastalık ile olan ilişkisi tespit edilmiştir. Daha sonra yapılan çalışma serilerinde HLA olarak da bilinen MHC klas II alleleriyle sarkoidoz ilişkisi daha net ortaya konmuştur. Bu çalışmalar sonucunda bazı allellerin hastalığa yatkınlıkla 11 (HLA DR 11, 12, 14, 15, 17) ilişkili olduğu gösterilirken bazılarının ise koruyucu (HLA DR1, DR4 ve muhtemelen DQ*0202) olabileceği düşünülmüştür.

T hücresi aktivasyonunda rol oynayan immünoglobulin süper ailesinin bir üyesi olan Butyrophilin-like 2 (BTNL2) içindeki mutant (A) rs2076530 aleli [13], sürekli olarak sarkoidoza yatkınlıkla ilişkilendirilmiştir. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, sarkoid üveitli (n=135), üveitsiz sarkoidozlu (n=196), sarkoidozsuz üveitli (n=81) ve sağlıklı kontrollerdeki (n=271) BTNL2 rs2076530 genotip frekansları karşılaştırılmıştır [14]. Beklendiği gibi, rs2076530 A alelinin taşınması artmış sarkoidoz riski ile ilişkilendirilmiştir. Özellikle, üveiti olmayan hastalar arasında, AA veya AG genotipinin taşınması, GG genotipinin taşınmasına kıyasla sarkoidoz gelişme riskini sırasıyla 5,06 kat ve 2,63 kat artırmıştır. Tersine, rs2076530 A sarkoid üveite artan duyarlılıkla ilişkili bulunmamıştır; bu da üveitli ve üveitsiz sarkoidozun genetik olarak farklı hastalık alt gruplarını temsil edebileceğini düşündürmektedir.

Rossides ve meslektaşları [15], bir vaka-kontrol-aile çalışması tasarımı ve nüfusa dayalı İsveç kayıtlarını kullanarak sarkoidozun ailesel kümelenmesini ve kalıtımını tahmin etmiştir. Sarkoidozlu en az bir birinci derece akrabaya sahip olmanın sarkoidoz gelişme riskini 3,7 kat artırdığını, iki veya daha fazla akrabaya sahip olanlarda (göreceli risk 4,7) ve Löfgren sendromunda (göreceli risk 4,1) göreceli riskin daha da arttığını bulmuşlardır. Bununla birlikte, hastalığın kalıtımsallığı sadece %39'dur, bu da genetik dışındaki

maruziyet gibi faktörlerin sarkoidoz riskine önemli katkıda bulunduğunu düşündürmektedir.

2. 3. 2. Çevresel Faktörler

Genetik olarak yatkınlığı olanlarda hastalığı başlatan faktörlerin ne olduğu konusu henüz net değildir. Önceleri çam polenleri, çeşitli mikroorganizmalar (M. tuberculosis, Propionibacterium, virüsler, vb.) üzerinde araştırmalar yapılmış, bir takım sonuçlar alınsa da hastaların tamamında kesin kanıtlar elde edilmemiştir. Geniş kapsamlı olarak hastalığın etiolojisine yönelik olarak yapılan ACCESS (A Case Control Etiologic Study of Sarcoidosis) isimli araştırmada hastalığa neden olan tek bir etiyolojik ajan ortaya konamamıştır. Kişinin bu ajanlara karşı geliştirdiği T Helper-1 aracılı immün yanıt, antijeni yok etmeyip; granülom içine hapsettiği ve hastalığa yol açtığı düşünülmektedir [5].

Çevresel maruziyetler, doğrudan granümatöz inflamasyonu tetikleyerek ve dolaylı olarak sarkoidoz riskini değiştiren epigenetik ve immünolojik değişikliklere neden olarak sarkoidoz patogenezinde varsayılan bir rol oynamaktadır. Mesleki maruziyetler, sağlık çalışanları ve itfaiyeciler de dahil olmak üzere diğer kohort çalışmalarında sarkoidoz ile ilişkilendirilmiştir. Bu çalışmalara rağmen, ilgili çevresel antijenler belirsizliğini korumaktadır. Ayrıca, bu maruziyetlerin doğrudan çevresel tetikleyicileri mi yoksa konakçı yanıt hazırlığını etkileyen dolaylı etkileri mi yansıttığı belirsizdir. Gelecekteki çalışmalarda cinsiyet ve soy ile ilgili maruziyet farklılıkları incelenmelidir [16].

İnorganik ve karmaşık çevresel hava kaynaklı maruziyetler sarkoidoz benzeri granümatöz pnömoni ile ilişkilendirilmiştir; kronik berilyum hastalığı iyi çalışılmış bir örnektir [17]. Bir başka örnek de Dünya Ticaret Merkezi felaketinde ilk müdahaleyi yapan kurtarma görevlilerinin yaşadığı "sarkoidoz benzeri" akciğer hastalığıdır [18]. Multisistem granümatöz inflamasyonun yokluğunda, bu hastalıkların sarkoidoz alanı altında mı gruplandırılması gerektiği yoksa etiyolojik olarak tanımlanmış bağımsız bir akciğer hastalığı olarak mı kalması gerektiği tartışılmaktadır. Ayrıca, diğer inorganik maruziyetler, silika da dahil olmak üzere sistemik sarkoidoz benzeri bir yanıtın tetikleyicileri olarak gösterilmiştir [19], [20].

2.3.3. İmmunopatogenez

Sarkoidozun patolojik özelliği, etkilenen organlarda CD4+ T hücrelerinin infiltrasyonu ile ilişkili epitelooid nonkazean granülomlardır. Granülomların içinde veya çevresinde

nadir nötrofil ve eozinofillerle birlikte dağınık makrofajlar, dev hücreler, CD8+ T hücreleri ve B hücreleri görülebilir. Periferik kanda CD4+ T hücresi ve B hücresi lenfopenisi yaygındır. Akciğer dokusu, bronkoalveolar lavaj (BAL) ve kandaki CD4+ T hücreleri IFN- γ , TNF- α ve sıklıkla IL-2 eksprese ederek Th1 efektör fenotipine polarize olur. Bu polarize yanıt, IL-4 veya IL-5 üreten bir Th2 yanıtına geçiş kanıtı olmaksızın hastalık seyri boyunca görülür. Sarkoidozun Th1-driven bir hastalık olduğuna dair klinik kanıtlar arasında IFN- α gibi Th1 destekleyici tedavilerle olan ilişki de yer almaktadır [21]. Th1 ile ilişkili gen ekspresyon imzaları, sarkoidozda klinik gerileme ile ilişkili olarak, hastalık patogenezinde ve klinik sonuçta Th1 yanıtları için birincil bir rolü destekleyen çeşitli transkriptomik çalışmalarda bulunmuştur [22], [23]. Sarkoidozdan etkilenen dokularda, BAL'da ve kanda Th17-polarize efektör T hücreleri de tespit edilmiştir, ancak Th1 hücrelerinden daha düşük sıklıktadır [24]. Th17 hücrelerinin sarkoidoz etiolojisindeki rolü belirsizliğini korusa da, çalışmalar IFN- γ üreten Th17.1 hücreleri [25] de dahil olmak üzere Th17 efektör yanıtlarının hastalığın şiddetini ve klinik seyrini etkileyebileceğini göstermektedir [26].

Sarkoidozdaki çalışmaların çoğu adaptif immüniteye odaklanmış olsa da, granülom oluşumu adaptif immüntenin yokluğunda da meydana gelebilir [27]. Doğuştan gelen Toll-like reseptörler (TLR'ler) sarkoidoz patobiyolojisine dahil edilmiştir [28]. TLR-2/TLR-1 heterodimerinin ligandlarına karşı immün yanıt, sarkoidoz periferik kan hücrelerinde TLR-2/TLR-6 ligandlarına karşı azalmış yanıtların varlığında görülmüştür [29]. Doğuştan gelen bir ligand olan serum amyloid A 'nın sarkoidoz granülomları içinde seçici olarak biriktiği [30] ve sarkoidoz BAL hücrelerinde Th1 sitokin yanıtlarını (örn. TNF, IL-18) indüklediği bulunmuştur. Ayrıca, kısmen TLR-2 aracılığıyla aracılık edilen deneysel bir granümatöz akciğer inflamasyonu modelinde de birikmiştir. SAA, Th1 yanıtlarını teşvik ederek, alternatif olarak aktive edilmiş makrofaj farklılaşmasına ve in vitro Th17 yanıtlarına katkıda bulunarak sarkoidozdaki sonuçları etkileyebilecek çok sayıda doğal reseptöre sahiptir [31], [32]. Birçok çalışma, BAL sıvısı ve kandaki serum amyloid A 'yı, hastalığın evresiyle ilişkili aktif sarkoidoz için bir biyobelirteç olarak tanımlamış ve kronik hastalığındaki rolünü desteklemiştir [33].

2.4. SARKOİDOZDA KLİNİK BULGULAR

Sarkoidozun klinik belirtileri oldukça değişkendir ve genellikle nonspesifiktir. Her organ etkilenebilir, ancak torasik tutulum %90'dan fazlasında görülür. hastalar. Sarkoidoz hastalarının tahminen %40'ının aşağıdaki hastalıklara sahip olduğunu belirtmek

önemlidir asemptomatiktir, akciğer grafilerinde tesadüfi bulgular vardır [34]-[36]. Dispne, kuru öksürük veya göğüs ağrısı tüm hastaların yaklaşık %50'sinde görülür. Masif hiler ve / veya veya mediastinal lenfadenopati genellikle asemptomatiktir, ancak yorgunluğa neden olabilir, Bazı hastalarda retrosternal ağrı veya disfaji görülebilir [37], [38]. Pulmoner sarkoidozda, Göğüs fiziksel bulguları genellikle minimaldir. Radyografik bulguların olduğu hastalarda bile anormallikler yaygındır, sarkoidozlu hastaların %20'sinden azında raller mevcuttur hastalar. Parmak çomaklaşması da sarkoidozda nadir görülür [35].

2.4.1. İntratorasik Bulgular

Akciğer ve Mediasten Tutulumu

Akciğer, hiler ve mediastinal lenf nodları en çok etkilenen organlardır (%90'dan fazlası). Pulmoner sarkoidoz hastalarının yarısı asemptomatiktir [39]. Semptomatik hastalarda genellikle kuru öksürük, hırıltı, nefes darlığı, göğüste sıkışma görülür. Hemoptizi nadirdir.

Plevral tutulum nadirdir; plevral effüzyon, plevral fibrozis ve pnömotoraks görülebilir. Pulmoner hipertansiyon gelişebilir. Üst solunum yolu tutulumu nadirdir; epiglottis tutulumu, ciddi hava yolu obstrüksiyonuna neden olabilmektedir. Larinkste granülomlar %1-3 oranında saptanır, ses kısıklığı olabilir [40] [41].

2.4.2. Ekstratorasik Bulgular

2.4.2.1. Lenf Nodu Tutulumu

%20 hastada görülür. Periferik lenfadenopati sıklıkla görülür. Servikal, aksiller, epitrokleer ve inguinal lenf nodları en sık tutulan lenf bezleridir. Etkilenen lenf nodları orta derecede şişkindir ve genellikle hassas değildir. Bunlar genellikle yuvarlak, granüler görünümündedir, belirgin kenarlı homojen ekojeniteye sahiptir [42]-[44].

2.4.2.2. Göz Tutulumu

Hastaların %40'ında göz etkilenir. Gözün her yerini etkileyebilir. Genellikle üveite neden olur ve en sık da anterior üveit görülür. İris ve lens arasında yapışıklık sonucu körlük oluşabilir. Üveit göz tutulumuna göre ön, arka, orta ve diffüz (panüveit) olarak sınıflandırılır. Göz içi inflamasyona bağlı olarak ön ya da arka üveit gelişebilir. Üveit dışında gözde; konjonktivit, sklerit, episklerit, konjonktival nodüller, lakrimal bez tutulumu, orbital kitle

ve optik nörit de yapabilir. Ağrı, fotofobi, hiperemi yapabilir. En sık görülen extratorasik sarkoidoz belirtisidir ve %20-40 hastada görülebilir [45]-[47].

2.4.2.3. Cilt Bulguları

Spesifik deri lezyonları: Papül/plak, subkütan nodüller görülebilir. Papüller cilt renginde, morumsu, hipo/hiper pigmentli, eritemli olabilir ve sıklıkla ekstremitelerde, baş ve boyun bölgesinde ve nadiren de gövdede bulunur. Subkütan nodüller deri altındaki adipoz dokunun granümatöz inflamasyonu ile oluşur. Multiple, ağrısız, üzerinde eritem olmayan lezyonlardır ve genellikle ekstremitelerde görülür. Nadiren yara izleri, dövmele ve lupus pernio çevresinde inflamasyon görülebilir [48].

Nonspesifik deri lezyonlar: Eritema nodozum; tipik olarak alt ekstremitte ön yüzeyinde görülen ağrılı eritematöz nodüllerdir. Genellikle sarkoidozun akut formunu (örn: Lofgren sendromu) temsil eder. Skarlı/skarsız alopesi görülebilir. Tırnaklarda onikolizis, distrofi, hiperkeratoz ve longitudinal çizgilenme görülebilir [49], [50].

2.4.2.4. Kas ve İskelet Sistemi Tutulumu

%1-13 hastada görülür [51],[52]. Akut artrit; sarkoidoza en sık Löfgren sendromunda (Bilateral hiler lenfadenopati, eritema nodozum ve artralji) ortaya çıkar. Ayak bileği tutulumu ağırlıklı olarak yumuşak doku şişmesi ve tenosinovitten kaynaklanır. Kronik artrit oldukça nadirdir. Artropati, osteoporoz, osteopeni görülebilir. Nodüler lezyonlar, eklemleri etkileyen kistik lezyonlar, artralji bulunabilir. Vertebra gövdelerini veya sakrum ve ilium kemiklerinin eklemlerini tutabilir [52].

2.4.2.5. Böbrek Tutulumu

Nadir görülür (<%3). Sarkoidoz hastaları kronik böbrek yetmezliği gelişmemesi için ve böbrek bozuklukları açısından takip edilmelidirler. Bu nedenle serum kreatinin, kan üre nitrojeni, glomerüler filtrasyon hızı, hem serumda hem de idrarda protein ve kalsiyum tam idrar tetkiki (hematüri ve piyüri) testleri kontrol edilmelidir. Sarkoidoz hastalarında 25-hidroksivitamin D3, 1,25-dihidroksivitamin D3 ve paratiroid hormonu test edilmelidir. Granümatöz interstisyel nefrit olguların %20'sinden azında görülür. Hiperkalsemi ve hiperkalsiüri nedeniyle nefrolitiazis ve nefrokalsinoz, ortaya çıkabilir [53]-[55].

2.4.2.6. Kalp Tutulumu

Hastaların azında (%5) kardiyak semptomlarla beraber kardiyak tutulum görülmekte ancak otopsi çalışmalarında %20-60 oranında görülmüştür [56], [35].

Başlangıçta hastalar asemptomatik olabilir fakat sonrasında çarpıntı, senkop ve hatta ani kardiyak ölüm gibi semptomlar ortaya çıkabilir. Miyokardın granüloamatöz inflamasyonu nedeniyle kalp yetmezliği gelişir ve hastalar aritmi (genellikle hastaların %50'sinde AV blok, ardından ventriküler taşikardi ve supraventriküler aritmi) ve kardiyomiyopati semptomları ile başvurular [57].

2.4.2.7. Nörolojik Tutulum

Santral veya periferik sinir sisteminin semptomatik tutulumu %5-13 oranında, otopsi serilerinde bunun üç katı oranda görülür [58]. Unilateral veya bilateral fasial ve optik sinir nöropatisi, nörosarkoidozun en sık görülen bulgularıdır [59]-[61]. Kranial nöropati epinöral/perinöral sinirin kendisinin granüloamatöz enflamasyonu veya leptomeninksler tarafından sinir basısı ile ortaya çıkabilir. Lezyonlar en yaygın olarak hipotalamus ve hipofiz bezlerinde bulunur ve diabetes insipidus, adrenal yetmezlik, hipofiz yetmezliği sonucu amenore-galaktore sendromu dahil olmak üzere endokrin belirtilere neden olabilir. Psikoz gibi psikiyatrik belirtiler ortaya çıkabilir. Omurilik tutulumu bacak güçsüzlüğü ile kendini gösteren nadir bir bulgudur. Hastalar genellikle gezici veya aralıklı olabilen ağrı, yanma hissi ve parestezi ile başvururlar. BOS'da artmış protein seviyesi ve monosit hücre sayısı görülür. Biyopsi zor ve invaziv bir işlem olduğundan nörosarkoidoz tanısı için invaziv olmayan en duyarlı test MR'dır [62]-[66].

2.4.2.8. Karaciğer ve Gastrointestinal Sistem Tutulumu

Gastrointestinal kanal boyunca granüloamatöz ülser veya nodüller, hastaların çok azında (%1) rastlanmakta. En çok etkilenen organ midedir. Midede yer alan patolojik süreç, mukozit, ülser, tıkanıklık veya darlıklarla sonuçlanan mukoza ve kas tabakasının granüloamatöz infiltrasyonudur. Hastaların %20 kadarı asemptomatiktir. Epigastrik ağrı ile başvurabilirler. Mide bulantısı, kusma, ishal, kilo kaybı vb görülebilir. Bir otopsi çalışmasına hastaların yaklaşık %80 inde karaciğerde granüloamatöz lezyonlar tespit edilmiştir. Karaciğer ve dalak tutulumunda hepatosplenomegali, portal hipertansiyon, intrahepatik kolestaz ve karaciğer fonksiyon bozukluğu görülebilir [51].

2. 5. SARKOİDOZDA TANI

Sarkoidoz tanısı standart değildir, ancak üç ana kritere dayanmaktadır [67];

- Uyumlu bir klinik prezentasyon
- Bir veya daha fazla doku örneğinde nekrotizan olmayan granümatöz inflamasyon bulgusu (burada daha sonra tartışıldığı gibi her zaman gerekli değildir)
- Alternatif granümatöz hastalık nedenlerin dışlanması.

Şu anda, bu tanı kriterlerinin her birinin karşılanıp karşılanmadığını belirlemek için objektif kriterler yoktur ve bu nedenle sarkoidoz teşhisi hiçbir zaman tam olarak güvenli değildir

Sarkoidozun klinik görünümü asemptomatik durumdan progresif ve nükseden hastalığa kadar değişen geniş bir spektrumda ortaya çıkar. Hastalığın ilerlemesi sıklıkla solunumsal yetersizliğe veya bazı durumlarda progresif pulmoner fibroz komplikasyonlarına veya ani kardiyak ölüm (aritmiler) veya konjestif kalp yetmezliği (miyokardit) dahil olmak üzere kardiyak tutulumdan kaynaklanan ölüme yol açar.

Sarkoidozun küresel sağlık etkileri bilinmemektedir, ancak yeni kanıtlar hastalığın daha önce tahmin edilenden çok daha yaygın olduğunu ve sarkoidozlu hastalar arasındaki ölüm oranının bazı hasta popülasyonlarında önceden bildirilenden çok daha yüksek olduğunu göstermektedir (örneğin, Sarkoidoz tanısı olmayan kadınlarla karşılaştırıldığında Afrika kökenli Amerikalı sarkoidoz tanısı alan kadınlarda ölüm oranı 2.4 kat daha yüksektir.

Sarkoidozdan etkilenen organ sayısında büyük bir değişkenlik vardır ve bu durum tanıda belirsizliğe neden olabilmektedir. Pek çok sarkoidoz vakası tanısız bir ikilem iken, sarkoidozun bazı klinik özelliklerinin, hastalık için o kadar yüksek düzeyde spesifik olduğu kabul edilir ki, bunlar tanısız olarak kabul edilir. Bunlar arasında Löfgren sendromu, lupus pernio ve Heerfordt sendromu bulunur. B semptomları (ateş, gece terlemesi ve kilo kaybı) olmayan hastalarda bilateral hiler adenopati gibi diğer özellikler sarkoidoz ile güçlü bir şekilde ilişkilendirilmiştir [67].

Patolojik tanı için ilk tercih edilecek yöntem; lenf nodları, cilt lezyonları, parotis bezi gibi kolay ulaşılabilir alanlar tercih edilmelidir. Akciğerden lenf nodu örneklemeğinde bronkoskopik yöntemler, mediastinoskopiye göre daha az invaziv ve güvenli olduğundan tercih edilebilir. Bronkoskopi ile BAL, bronş mukoza biyopsisi, transbronşiyal ince iğne aspirasyon biyopsisi (TBNA), transbronşiyal biyopsi (TBB) alınabilir. Endobronşiyal Ultrason eşliğinde Transbronşiyal İnce İğne Aspirasyonu (EBUS-TBİA) örnekleme tanı

koymadaki yüksek başarısı ve düşük komplikasyon riski sebebiyle literatür ile uyumlu olarak sarkoidoz tanı rehberlerinde ilk sırada yer almaktadır. Bronkoskopik yöntemle alınan bronkoalveolar lavajda CD4/CD8 T lenfosit oranının $>3,5$ olması %94 sensitivite, %96 spesifite ile sarkoidoz tanısı desteklemektedir ancak alınan örnekte hücrelerin en az $>15\%$ 'inin lenfosit olması gerekmektedir [5].

Görüntüleme Yöntemleri

Radyolojik görüntüleme, pulmoner sarkoidozun tanısı ve evrelemesinde önemli role sahiptir. 1960 yılında Siltzbach tarafından tanımlanan evreleme sistemi halen kullanılmaktadır. Bu evreleme aynı zamanda takip sırasında prognoz için de ipucu vermektedir. Bu evrelemeye göre [5];

- Evre 0: Radyolojik olarak bulgu yok
- Evre I: Bilateral hiler lenfadenopati
- Evre II: Bilateral hiler lenfadenopati ve parankimal infiltrasyon (Resim 1)
- Evre III: Parankimal infiltrasyon:
- Evre IV: Pulmoner fibrozis/ büllöz formasyon

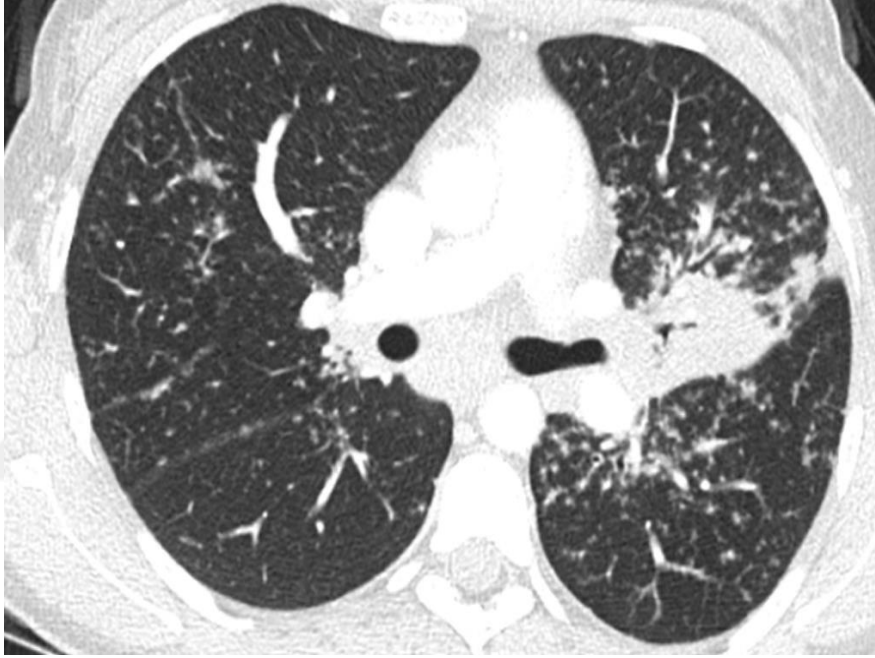


Şekil 1. Bilateral Hiler Lenfadenopati ve Parankimal İnfiltrasyon

Bilgisayarlı toraks tomografi; biyopsi öncesi mediastinal lenf nodlarının lokalizasyonunu ve büyüklüğünü belirlemede gereklidir. Tomografi, parankim lezyonlarının özelliklerine göre ayırıcı tanıda yardımcı olurken, progresyon açısından da bilgi verebilir. Sarkoidoz için karakteristik olan yüksek rezolüsyonlu bilgisayarlı tomografi bulguları (Resim 2);

Radvolojik bulular:

- Simetrik lenf nodlarının büyümesi,
- Plevral, interlobüler, septal, sentrolobüler yapılarda iyi sınırlı 2-10 mm nodül,
- Akciğerlerin santrali ve üst lob baskın tutulumu,
- >1cm büyük nodüller ve konsolidasyon,
- Fibrozis bulguları: septal kalınlaşma, bal peteği, traksiyon bronşektazisi,
- Buzlu cam görünümü,
- Perivasküler alanda nodüler veya düzgün kalınlaşmadır



Şekil 2. Santralden perifere uzanan, peribronkovasküler konsolidasyon, peripronşial kalınlaşma mikronodül, septal kalınlaşma, milimetrik nodüller

Solunum Fonksiyon Testleri (SFT)

Solunum fonksiyon testleri tanıdan daha çok hastalığın ağırlığı ve seyri hakkında bilgi vermesidir. En sık beklenen restriktif paterndir, FVC'de (forced vital capacity) ve FEV1'de (Forced Expiratory Volume in 1 Second) azalma saptanabilir. Fonksiyon testlerinde saptanan bulgular akciğer alveolar, intertisyel tutulumu veya bilateral hiler lenfadenopatiye bağlıdır. 6 dakika yürüme testi (6DYT) ndeki düşük sonuçlar, FVC azalması ile koreledir [5].

2. 6. SARKOİDOZUN AYIRICI TANISI

Sarkoidozun ayırıcı tanısı tipik olarak enfeksiyöz ve enfeksiyöz olmayan nedenlerin granümatöz bozuklukları olarak kategorize edilir (Tablo 1) [67].

Tablo 1. Sarkoidoz ayırıcı tanısında yer alan enfeksiyon ve enfeksiyon dışı durumlar

Organ Sistem	Enfeksiyon Dışı Ayırıcı Tanı	Enfeksiyon Ayırıcı Tanı
Santral Sinir Sistemi	IgG4 ilişkili hastalık	Bakteri
	Yaygın Değişken İmmünyetmezlik	<ul style="list-style-type: none"> Tüberküloz Bruselloz
Göz	Rosai-Dorfman Hastalığı	Mantar
	Histiyoitozlar	<ul style="list-style-type: none"> Aspergillus Koksidioidomikoz Kriptokokoz
	<ul style="list-style-type: none"> Histiyoitoz X Erdheim-Chester hastalığı 	Parazit
	Lenfomatoid Granümatozis	<ul style="list-style-type: none"> Amip Toxoplazma Şizozoma Tenya Solium Ekinokok Paragonimiazis
	Polianjit ile granümatoz	Virüsler
	Romatoid Nodüller	<ul style="list-style-type: none"> Varisella Zoster Herpes simplex
	Amiloidoz	Parinaud oküloglandüler sendromu
	Kolesterol granüloma	<ul style="list-style-type: none"> Bartonella Fransiella
	Yabancı Cisim	Bakteri
	<ul style="list-style-type: none"> İlaç/Toksin/Ağır metaller Tümör nedenli Sarkoid benzeri reaksiyon 	<ul style="list-style-type: none"> Tüberküloz Sfiliz
Göz	SSS maliniteleri (glioblastom, lenfoma)	Virüs
	İnflamatuar Barsak Hastalığı	<ul style="list-style-type: none"> CMV Varisella Zoster
Sinonazal	Anca Vaskülitler	Toksoplazmoz
	Vogt-Koyanagi-Harada Hastalığı	Bakteri
	Blau sendromu	<ul style="list-style-type: none"> Tüberküloz Atipik
	Granümatozis polianjiti	Mikobakteri
	Polianjit ile eozinofilik granümatoz	<ul style="list-style-type: none"> Klebsiella <i>Rhinoscleromatis</i> Sfiliz
	Kolesterol granüloma	Mantar
	NK/T hücreli Lenfoma	<ul style="list-style-type: none"> Aspergillus flavus Histoplazmoz
	Yabancı Cisim	Parazit
	İlaç/Toksin	<ul style="list-style-type: none"> Leşmanyazis Rinosporidiyoz
	<ul style="list-style-type: none"> Kokain Narkotikler 	
Parotis / tükürük / gözyaşı bezleri	Granümatozis polianjiti	Bakteri
	Duktal obstrüksiyon (taş, tümör)	<ul style="list-style-type: none"> Tüberküloz Atipik mikobakteriler
Kalp	Crohn Hastalığı	
	Büyük Hücreli miyokardit	Bakteri

	ARA	• Tüberküloz
	Polianjit ile granüloatoz	• Sfiliz
	Erdheim-Chester hastalığı	• Tropheryma whippelii
	Aritmojenik sağ ventrikül displazisi	Mantar
	Yabancı Cisim	• Aspergillus
	İlaç/Toksin	Bakteri
	Önemi bilinmeyen granüloatoz lezyonlar	• Tüberküloz
Dalak	Yaygın Değişken İmmünyetmezlik	Mantar
	Tümör nedenli Sarkoid benzeri reaksiyon	• Histoplazmoz
		Parazit
		• Leşmanyazis
Böbrek	Granüloatozis polianjiti	Bakteri
	KLL	• Tüberküloz
	İlaçlar	Mantar
	• Allopriazol	• Histoplazmoz
	• Antiviraller	• Koksidioidomikoz
	• Antikonvülsanlar	Virus
	• B-laktamlar	• Adenovirüs
	• Diüretikler	
	• Eritromisin	
	• Florokinolonlar	
	• NSAID	
	• Proton pompa inhibitörleri	
	• Rifampin	
	• Sülfonamid	
	• Vankomisin	
Kas	Non-Hodgkin Lenfoma	Bakteri
	Crohn Hastalığı	• Tüberküloz
	Timoma-Miyastenia Graves	• Sfiliz
	Yabancı Cisim	• Bruselloz
	Primer bilier siroz (Primer bilier Kolanjit)	Mantar
	Kriyofibrogenemi	• Pneumocystis jirovecii
		• Kriptokokoz
		Virus
		• HTLV-1

2. 7. SARKOİDOZDA TEDAVİ

Sarkoidozlu olguların önemli bir kısmında spontan remisyon gelişmektedir. Tedavi sadece semptomatik, organ fonksiyonları bozulmuş olgulara düşünülmelidir.

Pulmoner Sarkoidoz: Pulmoner sarkoidozda oluşan granüloatoz inflamasyon ile karbonmonoksit diffüzyon testi (DLCO) ve FVC azalması (bazala göre %10-20 den fazla) akciğer fonksiyonlarında önemli bir bozulma olduğunu göstermektedir [7].

Birinci basamak tedavi: 1-3 ay boyunca 20-40 mg/gün prednizolon gibi glukokortikoid tedavisi verilmelidir. Her 1-3 ayda bir 5-10 mg doz azaltılarak 5-10 mg/gün idame dozuna

ulaştıktan sonra yaklaşık 1 yıl tedaviye devam edilmelidir. Doz azaltılması ya da tedavinin kesilmesi ile %30 kadar hastada nüks görülebilir [7].

İkinci basamak tedavi: Glukokortikoid toksisitesinden kaçınmak için modifiye edilmiş anti-romatizmal ilaçların (DMARD'lar) kullanılması önerilmektedir [68]. Metotreksat (haftalık 10-25 mg) pulmoner sarkoidozda en sık kullanılan ilaçtır. Metotreksat ile birlikte folik asit desteği de verilmelidir. Hastada hepatotoksisite, kemik iliği baskılanması gibi komplikasyonlar geliştirebilir. Etki başlangıcı yavaştır (2-3 ay) [69]. Etkinliği daha az olan diğer DMARD'lar ise leflunomid (10–20 mg/gün), azatiyoprin (50–200 mg/gün) ve mikofenolat mofetildir (500–3000 mg/gün).

Üçüncü basamak tedavi: Bu basamakta Infliximab, adalimumab vb. gibi TNF-a inhibitörleri kullanılmaktadır. İnfliximab intravenöz olarak 5 mg/kg vücut ağırlığı dozunda 0. ve 2. haftalarda verildikten sonra ve her 4-8 haftada bir uygulanır. Adalimumab ise 1-2 haftada bir 40 mg subkutan olarak uygulanır. Bu ilaçlar verilirken yan etkiler göz önünde bulundurulmalıdır [49].

Ekstrapulmoner sarkoidoz: Deri: Deride en çok eritema nodozum benzeri kendini sınırlayan lezyonlar görülür. Bu nedenle çoğu hastada tedavi gerekli değildir. Ağrısı olan hastalar için kısa süreli nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID'ler) veya glukokortikoidler kullanılabilir. En iyi etkiyi elde etmek ve sistemik toksisiteyi azaltmak için en çok tercih edilen yol lezyon içi yada topikal kortikosteroid uygulamasıdır [70].

Göz: Sarkoidozda en sık görülen göz lezyonu üveittir. Glikokortikoidler ön üveit için göz damlaları şeklinde, arka üveit için perioküler/intravitreal enjeksiyon veya implantlar şeklinde kullanılabilir. Azathioprine, Infliximab gibi diğer ikinci ve üçüncü basamak ilaçlar da kullanılabilir. Bazen Orbital debulking/dekompresyon cerrahisi de gerekebilir [45].

Eklemler: Sarkoidoz eklem tutulumunda ilk seçenek NSAIDs ilaçlardır. Cevap vermeyen olgularda hidroklorokin ve metotreksat kullanılabilir [49].

Kalp: Miyokardın granümatöz inflamasyonu aritmi, iletim bozuklukları, sol/sağ ventrikül disfonksiyonuna yol açabilir. Kalp tutulumunun farmakolojik tedavisi, genellikle kalp yetmezliği ilaçları ve/veya antiaritmiklerle birleştirilen anti-enflamatuvar tedavinin (esas olarak kortikosteroidler) uygulanmasına dayanır. Farmakolojik olmayan terapötik yaklaşımlar, kalp pili veya defibrilatör implantasyonu, kateter ablasyonları ve kalp transplantasyonunu kapsar [71].

Nörolojik tutulum: Semptomatik hastalar kortikosteroidlerle tedavi edilmeli ve klinik olarak endike ise hidrosiklorokin, azatiyoprin, siklofosfamid veya metotreksat gibi diğer immünosupresanlar eklenmelidir [61].

Böbrekler: Renal sarkoidoz kronik böbrek hastalığı riski taşımaktadır. Tedavide DMARD'larla birlikte glukokortikoidler de kullanılabilir. Uzun süreli glukokortikoid alımında hiperkalsemi oluşabileceğinden kalsiyum seviyeleri periyodik olarak kontrol edilmelidir [49].

GİS ve karaciğer tutulumu: Nadiren etkilenir ve bu nedenle tedavisi belirsizdir. Glukokortikoidler ilk seçenek olarak kullanılabilir [48].

Oral kavite: asemptomatik lezyonlar yavaş yavaş iyileşir tedavi gerektirmez. Nodüler lezyonlar için ilk seçenek cerrahidir. Progresif ve ağrılı lezyonlarda kortikosteroidler kullanılabilir [72].

2.8. KEMOKİN AİLESİ

Kemokin kelimesi; kemotaktik ve sitokin kelimelerinden türetilmiştir. Kemokinler kemotaksis yapan (kemoatraktan) sitokin süper ailesidir. Kemokin süper ailesi çok sayıda ligand ve reseptörden oluşur.

1980'lerin sonunda CXCL8 (IL-8) ve CCL2 (MCP-1) kemokinlerinin tanımlanmasından bu yana kemokin süper ailesi hızla genişlemiştir [73]. Kemokin keşfinin ilk dalgası, nötrofilleri ve monositleri çeken bazı kemokinlerin keşfedildiği 1990'ların başında meydana gelmiştir. Bunların tanımlanması, enflamatuar tepkilere katılan aktif hücrelerdeki transkriptlerinin bolluğu ile kolaylaştırılmıştır. Reseptörleri kısa sürede tanımlanmış ve A sınıfı G proteinine bağlı reseptörlerin (GPCR'ler) bir alt grubu olduğu bulunmuştur (Vassilatis vd., 2003). Bununla birlikte, tanımlanan ilk ligand-reseptör ilişkilerinin karışık olduğu görülmüştür: tek bir kemokin birkaç kemokin reseptörüne bağlanırken, tek bir kemokin reseptörü birden fazla kemokin ligandına sahiptir. Dahası, kemokin genlerinin iki ayrı kromozomal bölgeye eşleştiği ve böylece biri CXC kemokinleri (insanda 4q13.3) ve diğeri CC kemokinleri (insanda 17q12) için olmak üzere iki büyük gen kümesi oluşturduğu bulunmuştur [74].

Kemokinlerin büyük çoğunluğu CXCL ve CCL alt-grubunda bulunurlar. Alt gruplar fonksiyonel açıdan da önem taşır. CXC kemokinler sıklıkla nötrofil kemotaksisini sağlarken, CC kemokinler esas olarak mononükleer enflamatuar hücreler, lenfositler ve monositler için kemoatraktan etki gösterirler [75], [76].

Kemokin molekülleri, yapılarında taşıdıkları sistein rezidüsünün (kalıntılarının) sayısına ve pozisyonuna göre alt gruplara ayrılırlar: İki rezidü bitişik olanlar cys-cys (CC), iki rezidü tek bir aminoasit ile ayrılmış olanlar cys-X-cys (CXC) olarak ifade edilir. CC kemokinler aktive T lenfositlerden sentezlenir ve esas etkilerini mononükleer enflamatuar hücre popülasyonu üzerinde gösterirler. CXC kemokinler ise aktive mononükleer fagositler, fibroblastlar, endotel hücreleri ve megakaryositlerden sentezlenir. Bunlar, akut enflamatuar mediatörler olarak polimorfonükleer lökositler üzerine etkili olurlar. Kemokinlerin hedef hücrelerdeki etkilerini gösterebilmeleri için aracılık eden spesifik reseptörleri vardır. CXC kemokinlerine seçici olarak bağlanan reseptörleri CXCR1'den CXCR5'e kadar isimlendirilmiştir. Buna karşılık CC reseptör ailesi 9 tane olup CCR1'den CCR9'a kadar olan yapıyı içermektedir [77].

2.8.1 Kemokin Reseptörleri

Kemokinler membran bağımlı moleküllerdir, yapılarında 7-transmembran domainleri içerir ve G-proteinleri ile çiftler oluştururlar. "G-protein-coupled protein" olarak tanımlanan kemokin reseptörleri, lökosit üzerinde eksprese olur. Kemokinler bu hedef hücreler üzerindeki G-protein-coupled reseptörlerine bağlanarak, hücre-içi sinyal mekanizmasını başlatırlar ve hücre göçü ile hücre aktivasyonu indüklenmiş olur [75].

Bugüne kadar tanımlanan 20 kemokin reseptörü farklı tipteki lökositler üzerinde eksprese olur. Bazı kemokin reseptörleri de epitel hücreler, endotel hücreleri, non- hematopoitik hücreler, nöronlar ve astrositler gibi hücreler üzerinde eksprese olmaktadır [78]. Bu bulgular kemokinlerin, lökosit kemotaksisi haricinde başka önemli işlevlerinin de bulunduğu göstermektedir. Birçok kemokin birden fazla kemokine bağlanabilse de, CC kemokin reseptörleri yalnızca CC kemokinine bağlanabilir ve CXC kemokin reseptörleri de aynı şekilde yalnızca CXC kemokinine bağlanabilmektedir.

Kemokin reseptörleri, "G-protein-coupled reseptör"lerin diğer üyeleri gibi işlevsel olarak fosfolipazlarla G-proteinlerine bağlıdır. Kemokinler ayrıca 2 çeşit sinyal oluşturmeyen moleküllerle de etkileşime geçebilmektedir. Bunlardan ilki, eritrosit kemokin reseptör ve DARC (Duffy antijeni kemokin reseptörü) olarak bilinmektedir. İkincisi ise, heparin sülfat proteoglikanlardır [79].

2.8.1.1. CC Kemokin Reseptör 2 (CCR2)

C-C motif ligand 2 (CCL2), CC kemokinleri arasında ilk olarak 1989 yılında keşfedilmiş ve diğer CC kemokinlerinin keşfedilmesine yardımcı olmuştur. Monosit kemoatraktan

protein-1 (MCP-1) olarak da bilinen CCL2, 76 amino asitten oluşur ve 13 kDa büyüklüğündedir. CCL2, endotel hücreleri, epitel hücreleri, miyeloid hücreler, düz kas hücreleri ve fibroblastlar dahil olmak üzere çok çeşitli hücrelerde ifade edilir. CCL2'nin biyolojik işlevine G proteinine bağlı reseptörü C-C kemokin reseptörü 2 (CCR2) aracılık eder [80]-[83].

CCR2 monosit hareketliliğinde görev alan bir kemokin reseptörüdür. Hücre içi ve hücre dışı bağlantısı olan yedi transmembran alandan oluşur. Ligandlara bağlanabilen, özgülüğü sağlayan hücre dışı N-terminalinden; hücre içi sinyalde rol alan hücre içi C terminal bölgelere sahiptir [84], [85].

2.8.1.2. CC Kemokin Reseptör 2 (CCR2) Hastalılardaki Rolü:

Kemokin reseptörleri ve bunların ligandları KOAH [86], astım [87] gibi hava yolu hastalıkları, pulmoner fibrozis [88] gibi kronik hastalıklar ve akciğer enfeksiyonunun [89], [90] patogenezinde rol oynar.

2.9. YENİ NESİL DİZİLEME (YND) ÇEŞİTLERİ

Tıbbi bilimlerde translasyon ürünü olan protein düzeylerinin belirlenmesi ile ilgili çalışmalar [91]-[94], genin transkripsiyon ürünü olan RNA düzeyinin belirlenmesiyle ilgili çalışmalar [95]-[101] olabileceği gibi son zamanlarda hastalıkların tanısı ve etyopatogenezinin daha net bir şekilde anlaşılması için kullanılan ve büyük önem taşıyan DNA'nın direkt kendi yapısının YND ile tarandığı çalışmalar büyük önem arz etmektedir.

Sanger dizileme ve floresan tabanlı elektroforez teknolojileri ile insan genomunun büyük bir çoğunluğu dizilenerek İnsan Genom Projesi tamamlandıktan sonra YND yöntemleri hızla gelişmiştir [102]. Bunu takiben, YND ile kullanımı giderek artan yüksek verimli dizileme teknolojileri bir çok alanda çok hızlı ilerlemenin önünü açmıştır [103]

YND yöntemi, DNA'nın enzimatik olarak kesilmesi ile bir kütüphanenin oluşturulması ve kütüphanedeki DNA parçalarının çoğaltılması temeline dayanır. Böylece çok sayıda DNA parçaları dizilenerek, genom üzerindeki bazların doğru bir şekilde okuması yapılmaktadır [103], [104]. YND'de elde edilen verilerin kalitesi ve sağlamlığı önemlidir. YND'nin başarılı bir şekilde uygulanabilmesi için yüksek kaliteli verinin elde edilmesi ve bu verilerin doğru yorumlanması gerekmektedir. YND tarafından yapılan üç ana DNA dizileme türü vardır: Hedefe Yönelik Oluşturulan Paneller, Tüm Ekzom ve Tüm Genom Dizilemeler.

Karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (CGH) olarak da bilinen Kromozomal mikroarray analizi (CMA) tüm genomda klinik olarak önemli büyükkromozom dengesizliklerini (anöploidiler) ve submikroskobik (mikrodelesyon/mikroduplikasyon) kopya sayısı değişikliklerini belirleyebilen yeni nesil bir genetik testidir. CMA analizi, karyotip analizine göre 100 kat daha duyarlı ve tanıya %15-20 oranında katkı sağlayan bir testir [105]. CMA pahalı, zahmetli ve zaman alan bir test olduğundan, klinik parametrelerin dikkate alınması yüksek tanılabilirlik açısından çok önemlidir. Özellikle fenotipik olarak önemli klinik bulgulara neden olabilecek, mikrodelesyonların, mikroduplikasyonların ve anöploidinin tespitinde CMA oldukça duyarlı bir şekilde kullanılabilir bir testir [106].

Yine Non Invaziv Prenatal Test (NIPT) tarama testi, rutin gebelik tarama testlerine dahil edilmeyen, 10 hafta ve üzeri gebelerin plazmasından cell free DNA elde edilerek YND yöntemiyle yapılan yüksek hassaslığa sahip bir aneuploidi tarama testidir.

YND yöntemi kullanılarak MEFV geninde yeni bir mutasyon olan K447m (P.Lys447met, C.1340 A>T)'in tanımlandığı [107], Gorlin sendromunda yeni bir çerçeve kayması mutasyonun (c.959delc, P.Val322 Phe Fsx2) tanımlandığı [108], Megalencephalic Leukoencephalopati'de homozigot bir mutasyonun (c.448delc, P.Leu150 Ser Fsx11) tanımlandığı [109], EEC sendromunda de novo bir mutasyonun (c.953g>a) tanımlandığı [110], Alport sendromunda *COL4A3* geninde yeni bir mutasyonun tanımlandığı [111], MODY diabetle ilgili *GCK* geninde tanımlanan varyasyonların fenotiple ilişkisinin tanımlandığı [112], Xeroderma pigmentosum E de *DDB2* geninde yeni bir mutasyonun tanımlandığı [113], *CYP17A1* geninde delesyon sonucu atipik bir görünümün olduğu 17 α -Hydroxylase defekti [114], ELP2 ilişkili oldukça nadir bir nörogelişimsel bozukluk durumu [115], *GNPTG* geninde tespit edilen 2 yeni mutasyonun tanımlandığı [116], *FBNI* geninde yeni mutasyonların tanımlandığı [117], *PNPLA6* geninde homozigot (c.3524C>G (p.Ser1175Cys) varyantın tanımlandığı [118], sıcak su epilepsisinin eşlik ettiği *SHOX* geninde bir varyantın tanımlandığı [119], AGTPBP1 geninde serebellar atrofi olmaksızın nörodejenerasyona yol açan bir varyantın tanımlandığı [120]¹²⁰, *Paired Box 3* geninde yeni bir varyantın tanımlandığı [121], Gecikmiş bir pubertanın neden olduğu 17 α -hydroxylase enzyme eksikliği [122]. Erken başlangıçlı Alzheimer'ın nedeni olan *PSEN* geninde yeni bir varyantın tanımlandığı [123], MODY'e neden olan yeni varyasyonların tanımlandığı [124], Meme kanserine neden olan BRCA's genlerinde yeni varyantların tanımlandığı [125], Spesifik öğrenme güçlüğü olan çocuklarda *FOXP2* geninde yeni varyantların tanımlandığı [126]. *ALMS1* geninde yeni varyantın

tanımlandığı [127], With 761_764dupCCGC p.Asn256Argfs70 *MEFV* Gen varyasyonunun tanımlandığı [128], Biyotidinaz defektine neden olan *SRD5A2* geninde yeni bir varyasyonun tanımlandığı [129], Konjenital renal agenezisin eşlik ettiği Klippel-Feil sendromlu bir hastanın, *GCK* geninde yeni bir homozigot varyantın tanımlandığı [130], [131], Intrahepatik koleostozise neden olan *ABCB11* ve *ATP8B1* genlerinde yeni kombina varyantların tanımlandığı [132], kardiak bulgulara neden olan *MEFV* geninde yeni ve nadir varyasyonların tespit edildiği [133], Down sendromunda protrombik risk faktörüne neden olan varyantların tespit edildiği [134], Ailesel hiperkolesterolemiye neden olan bir heterozigot c.1730G> C (p.Trp577Ser) varyantın tespit edildiği [135], Behçet hastalarında HLAB51 varyantlarının sıklığının tespit edildiği [136], *MEFV* geninde A89T (p. Ala89Thr, c.265G>A) varyantının tespit edildiği [137] Psödohipoaldosteronizm Tip 1 tanılı bir olguda moleküler genetik etiyojinin araştırıldığı [138], Miyotonia konjenitaya neden olan varyantların tanımlandığı [139], ST-Elevation Myocardial Infarctiona neden olan Prothrombotic Risk Faktörlerin tanımlandığı [140], Charcott-Marie-Tooth Disease Type 4c'ye neden olan *SH3TC2* geninde bir varyantın tanımlandığı [141], Tuberosclerosis'e neden olan *TSC1* geninde yeni bir varyantın tanımlandığı [142], Erkek infertilitesine neden olan varyantların tanımlandığı [143], Dirençli epilepsinin eşlik ettiği Tuberosclerosis'e neden olan bir varyantın tespit edildiği [144], Tekrarlayan gebelik kayıpları neden olan trombofili parametrelerinin değerlendirildiği [145], α -Talasemi Genotipleri ve α -Talasemi Genotip Frekansının tespit edildiği [146] çeşitli çalışmalar yapmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. ARAŞTIRMA TİPİ, YERİ VE HASTALARIN SEÇİMİ

Bu çalışmada Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Kliniğinde sarkoidoz tanısı ile takip edilen 31 hasta ve sarkoidoz dışı bir nedenle başvurmuş 19 kontrol üzerinde yapılmış bir çalışmadır. Çalışmaya katılan tüm bireylere çalışma ile ilgili sözlü ve yazılı bilgi verilerek çalışmaya katılma için gönüllü olanlardan yazılı olarak sunulan katılımcı bilgilendirme ve onam formunu imzalayan bireyler çalışmaya katılmıştır.

3.2. ARAŞTIRMAYA DAHİL OLMA KRİTERLERİ

1. 18 yaşından büyük olan
2. Göğüs Hastalıkları Kliniğinde sarkoidoz nedeniyle takip edilen hastalar
3. Sarkoidoz dışı bir nedenle Göğüs Hastalıkları Kliniği'ne başvuran sağlıklı kontroller
4. Bilgilendirilmiş olur formunu imzalamış ve olur vermiş olan gönüllüler dahil edildi.
5. Tedavi gerektirmeyen sarkoidoz tanısı olanlar

3.3. ARAŞTIRMAYA DAHİL OLMAMA KRİTERLERİ

1. 18 yaşından küçük olanlar
2. Sarkoidoz tanısı olmayan başka bir kronik hastalığı olanlar
3. Bilgilendirilmiş olur vermeyen hastalar ve kontroller
4. Tedavi gerektiren sarkoidoz hastalığı olanlar

3.4. ARAŞTIRMANIN GENEL PLANI

Şu anki mevcut çalışmayı yapmak için Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kuruluna başvurularak çalışma için onay alındı (Etik kurul onay tarihi: 26.07.2021 ve Onay numarası: 2021/179) (**Ek 1**). Çalışmanın yapılabilmesi için gerekli olan maliyeti desteklenmesine karar verilen 2022.04.03.1329. numaralı proje ile Düzce Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeler Birimi tarafından karşılandı. Çalışmaya dahil edilmesi planlanan hasta ve kontrol grubuna sözlü olarak araştırmanın konusu, amacı ve önemi hakkında bilgi verilerek çalışmaya dahil olmaya gönüllü olan katılımcıdan bilgilendirilmiş onam formu alındı.

Çalışmaya dahil edilen bireylerin yaş, cinsiyet, kalsiyum, Forced vital capacity (FVC%),: diffusing capacity of the lungs for carbon monoxide (DLCO%), Anjiotensin converting enzim (ACE), hastalık evresi, tutulum yapan organlar ve ek hastalık durumları kaydedildi.

Tam kan sayımı testi laboratuvarımızda bulunan BECKMAN COULTER LH780 cihazı ile çalışıldı.

Çalışmaya dahil edilen hasta ve kontrol grubundan CCR2 (NM_001123396.4) tüm gen dizi analizinin yapılabilmesi için çalışmaya dahil olan bireylerin rutin amaçlı tahliller için alınan kanlarından geriye kalan atık kanlar kullanıldı. Atık kanlardan örnek toplama işlemi tamamlanıncaya kadar -20°C'de saklandı.

3.5. CCR2 (NM_001123396.4) TÜM GEN DIZI ANALIZI

CCR2 (NM_001123396.4) tüm gen dizi analizine başlamadan önce ana başlıklar halinde özetleyecek olursak;

- Çalışmaya dahil olan tüm bireylerin periferik kan örneklerinden DNA izolasyon yapıldı.
- Bireylerden izole edilen DNA örneklerinde çalışılması planlanan gen bölgesi bu bölgelere özgü primerler kullanılarak çoğaltıldı,
- Çoğaltma işlemi sonrası elde edilen ürünlerin saflaştırma işlemleri yapıldı.
- Saflaştırma işlemi sonrası hedefe yönelik YND analiz yöntemi kullanılarak hedeflenen gen bölgelerinin moleküler genetik analizi yapıldı. Yapılan işlemler ayrıntılı olarak aşağıda verilmiştir.

3.5.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Nükleotid dizilimi bilinen DNA'ya ait bir ya da birden fazla bölgenin in vitro olarak çoğaltılıp, ilgili DNA bölgelerinin çok sayıda (milyonlarca, hatta milyarlarca) kopyasının kısa zamanda oluşturulmasını sağlayan bir moleküler tekniktir. Bu teknik ilk olarak Kary Mullis tarafından uygulanmaya konmuş ve bu başarısı nedeniyle 1993 yılında Nobel Kimya Ödülünü almaya hak kazanmıştır [147].

Nükleik asit molekülünün canlı hücre dışında, hızlı bir şekilde kısa sürede kolay yüksek oranlarda çoğaltılmasına olanak sağlayan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)'nin keşfi birçok alanda yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Moleküler genetikteki devrim niteliğindeki buluşlardan biri olan PCR hücre bölünmesi esnasındaki DNA replikasyonun basit bir şekline benzer. Ayrıca ısıya dayanıklı olan Taq DNA polimeraz

enziminin kullanılması, PCR için otomasyonun kolayca uygulanmasını sağlamıştır [148], [149].

Polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi çoğaltılması (replikasyon) istenen DNA veya RNA'nın, bir tüp içerisine gereken diğer maddelerle birlikte konularak üç değişik ısıda, bir döngü (siklus) içerisinde tutularak ve bu siklusların belirli sayıda tekrarlanmasına dayanır. PCR işlemi bir tüp içerisinde üç basamaktan meydana gelir. Birinci basamak olan denatürasyon aşamasında kullanılan cihaz sıcaklığının 90-94 °C derecelerde çift iplik DNA molekülünün tek iplik haline gelmesi sağlanır. İkinci basamak olan primerlerin hedef DNA bölgelerine yapışarak DNA polimeraz için sentez başlangıç uç noktaları oluşturması aşamasında yapışması 50-52°C lerde gerçekleşir. Daha sonra üçüncü basamak olan uzama aşamasında ortama konmuş olan *Thermus aquaticus* (Taq) polimerazı, uygun sentez sıcaklığı olan 72-74 °C 'de hedef DNA'ya yapışmış primerlerin 3' ucundan başlayarak istenen DNA bölgesinin kopyasını sentezler. Bu tekrarlayan sentezleme işlemi sonunda milyonlarca DNA kopyası oluşmuş olur. Primerler 15-30 bazdan oluşan oligonükleotid yapılar olup bunlardan biri kendine ait 5' ucu ile hedef DNA'lardan birinin 3' ucuna ve diğer primerler de, ikinci tek iplikçik DNA'nın, anti paralel olarak diğer ucunda bulunan 3' ucuna bağlanarak, DNA polimeraz'ın (5'-3') yönünde kalıp ipliğe göre polimerizasyonunu sağlar (<https://genotyping.files.wordpress.com/2007/03/pcr.gif>).

3.5.2. DNA İzolasyonu

Çalışmaya dahil edilen bireylerin EDTA'lı kan örneklerinden spin kolon yöntemi ile REALPURE SPIN KIT–REAL kiti (Durviz, S.L.U) ile kullanılarak DNA izolasyonu aşağıdaki şekilde yapılmıştır.

1. 1,5 ml'lik tüp içerisine 100 µl tam kan eklenir.
2. 37°C'de 30 dakika inkübe edilir.
3. 180 µl Tissue Lysis Buffer (REAL-E22) ve 20 µl proteinaz K (20 mg / ml) eklenir.
4. 55°C'de 30 dakika inkübe edilir.
5. 200 µl Lysis / Binding Buffer (REAL-REA01) eklenir.
6. 70°C'de 10 dakika inkübe edilir.
7. 300 µl saf izopropanol (MP Biomedicals -No: 19400690) eklenir.
8. Karışım toplama tüpü (REAL-R30) içerisine yerleştirilen kolon (REAL-RSC01) içerisine eklenir.
9. 8000 rpm'de 60 saniye çevrilir (Eppendorf–Centrifuge 5415R).

10. Toplama tüpü atılır, kolon yeni bir toplama tüpüne yerleştirilir.
11. 500 µl Disinhibition Buffer (REAL-REA03) eklenir.
12. 8.000 rpm’de 60 saniye çevrilir (Eppendorf – Centrifuge 5415R). Toplama tüpü atık kabına boşaltılır.
13. 500 µl Wash Buffer (REAL-REA04) eklenir.
14. 8.000 rpm’de 60 saniye çevrilir (Eppendorf – Centrifuge 5415R). Toplama tüpü atık kabına boşaltılır.
15. 13. ve 14. basamaklar tekrar edilir.
16. En yüksek hızda 90 saniye çevrilir (Eppendorf – Centrifuge 5415R). Toplama tüpü atılarak kolon 1,5 ml’lik steril tüpe yerleştirilir.
17. 70°C’ye ısıtılmış 10 µl Elution Buffer (REAL-REA05) kolona eklenir. 70°C’de 60 saniye inkübe edilir.
18. En yüksek hızda 90 saniye çevrilir (Eppendorf–Centrifuge 5415R).
19. 17. ve 18. basamaklar iki defa tekrar edilir.
20. Kolon atılır. 1,5 ml’lik tüpte izole edilen DNA vardır.

3.5.3. Primerlerin Tasarımı

Çalışmaya dahil edilen bireylerin *CCR2* (NM_001123396.4) tüm gen dizi analizini gerçekleştirmek için hedef bölgelere özgü olan primer tasarımı “PRIMER© – Primer Designer v.2.0 (Scientific & Educational Software)” yazılımı kullanılarak yapılmıştır.

3.5.4 Çalışma Stratejisi

MISEQ-Illumina YND cihazında havuzlama yöntemi kullanılarak DNA’ları eşit oranda karıştırılarak değerlendirilmiş, varyasyon olduğu belirlenen ekzonlar tüm hastalarda yine yeni nesil yöntemiyle her bir hasta için ayrı ayrı yeniden değerlendirilmiştir.

3.5.5 PCR

Çalışmaya dahil edilen bireylerin hedeflenen *CCR2* (NM_001123396.4) gen bölgelerinin çoğaltılması aşağıda verilen reaksiyon içerikleri ve miktarları kullanılarak yapıldı.

Tablo 2. PCR reaksiyon içeriği

Miks İçeriği	Miktarı (µl)
Kalıp DNA molekülü(20-50 ng/µl)	2
İleri Primer (5 µM)	1
Geri Primer (5 µM)	1
dNTP karışımı, her bir nükleotid için (10mM) (Thermo Fisher Scientific Inc.)	0,5
5XTampon (MgCL2'li)	5
Phire II Taq DNA Polimeraz (Thermo Fisher Scientific Inc.)	0,5
dH ₂ O	15
Toplam Hacim	25

PCR reaksiyonu için hazırlanmış olan karışımlar 0,2 ml'lik PCR tüplerine konularak T100 (BioradInc.) cihazına yerleştirilerek aşağıdaki döngü sayısı ve koşullarında çoğaltma işlemi gerçekleştirildi.

Tablo 3 Yapılacak olan PCR döngü sayısı ve koşullarında

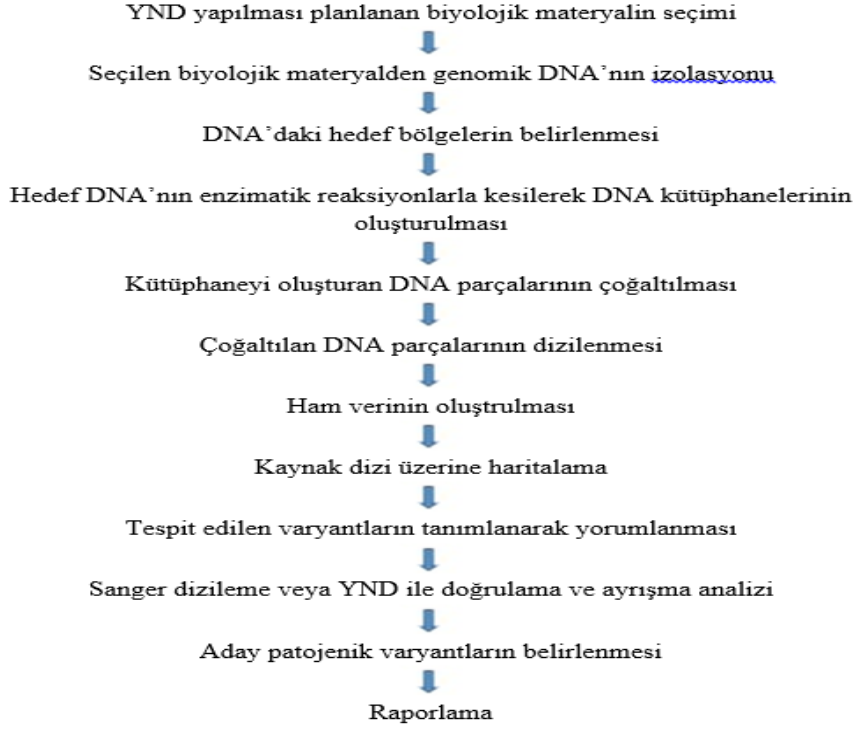
Sıcaklık (°C)	Süre (dk:sn)	Döngü Sayısı
95	01:00	1
95	00:10	
60	00:10	45
72	00:20	
72	01:00	1
4	Süresiz	1

3.5.6 Yeni Nesil Dizi Analizi ve Çalışma Prensipleri

YND olarak adlandırılan yöntemin temeli DNA'nın enzimatik reaksiyonlar sonucu parçalara ayrılıp oluşan çok sayıda bu DNA parçalarıyla bir kütüphane oluşturulması ve sonrasında bu DNA parçalarının amplifikasyonu prensibine dayanmaktadır. Günümüzde 6000'den fazla tek gen hastalığı olduğu bilinmekte olup, buna karşın bu hastalıkların nerdeyse %70'inin moleküler temeli bilinmemektedir. YND yöntemiyle birçok hastalığın moleküler genetik temeli anlaşılabilir ve hastalıkların

etyopatogenezisinin daha iyi aydınlatılması sağlanabilmektedir. YND teknolojilerinin kullanılmasıyla hedefe yönelik oluşturulan YND panelleri, tüm ekzom ve tüm genom dizilemeleri yapılarak genetik heterojenite gösteren hastalıklar için çok sayıda gen aynı anda dizilenip, sarkoidoz gibi fenotipik ve genotipik heterojenite gösteren hastalıkların moleküler genetik temelleri ortaya konularak hastalıkların etyopatogenezisi daha net olarak anlaşılabilir. Bu sayede hastalığın oluşmasına neden olan genetik varyasyonların gösterilmesiyle genetik olarak risk taşıyan bireyler hızlıca belirlenebilmekte, uygun tedavi stratejileri geliştirilebilmekte ve hatta gelecekte yapılan genetik araştırmalar sonucunda gen düzeltme yöntemleriyle hatalı genlerin işlevlerinin yeniden düzenlenmesi ya da gen aktarımı yoluyla hatalı ya da nonfonksiyonel olan bu genlerin sağlıklı olanlarıyla değiştirilmesiyle gen defekti olan bireylerde kalıcı tedavinin sağlanabileceği düşünülmektedir [150].

YND olarak adlandırılan yöntemin temeli DNA'nın enzimatik reaksiyonlar sonucu parçalara ayrılıp oluşan çok sayıdaki bu DNA parçalarıyla bir kütüphane oluşturulması ve sonrasında bu DNA parçalarının amplifikasyonuna dayanmaktadır. Bu yöntemde milyonlarca küçük DNA parçasının paralel sekanslama ile eş zamanlı olarak dizilmesi sağlanmakta; bu nedenle genomdaki her bir bazın çok sayıda okunması ve buna bağlı olarak varyasyonlar daha doğru bir biçimde saptanabilmesi mümkün olmaktadır. YND sistemi ana hatlarıyla; çalışılacak biyolojik materyalin temini, temin edilen biyolojik materyallerden genomik DNA'nın izolasyonu, izole edilen DNA'daki çalışılacak hedef bölgelerin belirlenmesi, DNA'nın enzimatik reaksiyonla kesilerek DNA kütüphanelerinin oluşturulması, kütüphaneyi oluşturan DNA parçalarının amplifikasyonu ve dizilmesi, dizileme sonrası ham verinin oluşturulması, kaynak dizi üzerine haritalama, olası genetik varyasyonların tanımlanarak yorumlanması, sanger dizileme veya YND ile yeniden tespit edilen varyantların doğrulanması, eğer gerekiyorsa segregasyon analizinin yapılması, aday patojenik değişimlerin belirlenmesi ve son olarak elde edilen bu verilerin uygun bioinformatik programlar kullanılarak raporlanması aşamalarından oluşmaktadır (Şekil 4) [150].



Şekil 3. YND akış şeması

Şu anki çalışmamızda MiSeq (Illumina, San Diego, CA) sistemi kullanılmış ve hedefe yönelik dizileme (Targeted resequencing) yöntemi uygulanmıştır.

3.5.7. Nextera Protokol

YND için kütüphane hazırlığında Nextera V2 kit kullanılmakta olup, kütüphane hazırlığı aşamaları aşağıdaki gibidir.

3.5.7.1. PCR Amplifikasyonu

1. Her bir amplicon kendi için belirlenmiş metot talimatına göre hazırlanır.
2. Tüm ampliconlar exosap ile saflaştırılır.
3. Saflaştırılmış ampliconların DNA konsantrasyonları nanodrop ile tespit edilir.
4. Verilen listedeki havuzlar oluşturulur ve her amplicon havuzu qubid ile ölçülür.
5. Havuzdaki önkeler 0,2ng/ul olacak şekilde seyreltilerek sonraki aşamalara geçilir.

3.5.7.2. DNA Tagmentasyonu

1. Tagmentasyon aşaması (VTA plate)

2. 5ul örnek enzimatik olarak parçalanır ve sonrasında enzim aktivitesini durdurmak için nötralizasyon yapılır.

3.5.7.3. *İndeks PCR*

1. Tagmentasyon yapılmış örneklere 5 ul (i7) ve 5ul (i5) indeks primeri ile çift taraflı olarak barkot eklenir. Bu aşama kısa bir PCR işlemi ile uygulanır.

3.5.7.4. *PCR Purifikasyonu*

1. Bu aşamada Ampure magnetik beadler kullanılarak örnekler saflaştırılır.

3.5.7.5. *Kütüphane Havuzlama ve Miseq Cihazına Yükleme*

1. Bu aşamada her bir barkotlu örnek havuza eklendikten sonra örnek havuzu NaOH ile denatüre edilir. Daha sonra bunların üzerine gerekli miktarda HT1 eklenerek 600ul örnek kütüphanesi kartuşa yüklenir ve koşum başlatılır.

3.5.7.5. *Analiz*

1. Koşum sonrası cihazda 3 tip veri elde edilir (BAM, VCF, FASTQ) .
2. VCF dosyaları variant studio programı ile analiz edilir.
3. Elde edilen sonuçlar FASTQ dosyasından Nextegene analiz programı ile doğrulanır.
4. BAM dosyaları kullanılarak her gendeki farklı bölgelerin kapsamı kontrol edilir ve zayıf amplifikasyon bölgeleri tespit edilir.

3.6. İSTATİKSEL ANALİZ

Çalışmamızın verileri bilgisayar ortamında SPSS 22.0 (SPSS, Inc., Chicago, Illinois, USA) istatistik programı kullanılarak analiz edildi. İlk olarak tanımlayıcı istatistikler yapıldı. Ölçümle belirlenen değişkenler için ortalama ve standart sapma şeklinde tanımlayıcı veriler hesaplandı. Öncelikle kullanılan verilerin normal dağılıma uygunluğu için Shapiro-Wilk testi yapıldığında normal dağılım göstermediği ($p < 0,05$) saptandı. Bununla birlikte istatistiksel analizde non-parametrik testler yapılması uygun bulundu. İkili kıyaslamalarda Mann-Whitney U Testi, ikiden fazla kıyaslamalarda Kruskal–Wallis Testi kullanıldı. Korelasyon testi ile iki grup arasındaki ilişki araştırıldı. Çapraz tablo (Cross Tab) analizi ile iki kategorik (isimsel veya dereceli) değişken arasındaki ilişki değerlendirildi. Elde edilen 0.05'ten küçük p değerleri anlamlı kabul edildi. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma şeklinde verildi.

4. BULGULAR

4.1. DEMOGRAFİK BULGULAR

Bu çalışmada Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Kliniğinde sarkoidoz tanısı ile takip edilen 31 hasta ile sarkoidoz dışı bir nedenle başvurmuş 19 kontrol dahil edilmiştir. Hasta grubunun yaş ortalaması $56,23 \pm 9,625$ (31-74) ile kontrol grubunun yaş ortalaması $48 \pm 15,979$ (25-87) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardı ($Z=-2,441$, $p=0,015$) (Table 6).

Mevcut çalışmamıza 35'si (%70) erkek, 15'i (%30) bayan olmak üzere toplam 50 birey dahil edilmiştir. Hasta grubunda 24(%77,4) bayan ve 7(%22,6) erkek varken, kontrol grubunda 11(%57,9) bayan ve 8(%53,3) erkek vardı ($\chi^2=2,138$; $p=0,144$).

4.2. KLLİNİK BULGULAR

Hasta grubunun evre durumuna bakıldığında 4(%12,9) birey evre 1 iken 27(%87,1) birey evre 2 deydi. Tutulumu bakıldığında hastaların tamamında akciğer tutulumu olmakla beraber, 24(%77,4) hastada yalnızca akciğer; 1(%3,2) hastada akciğer ve cilt; 2(%6,4) hastada akciğer ve ekstrapulmoner lenf nodu; 1(%3,2) hastada akciğer ve böbrek; 1(%3,2) hastada akciğer, böbrek ve ekstrapulmoner lenf nodu; 1(%3,2) hastada akciğer, cilt ve karaciğer; 1(%3,2) hastada akciğer ve gis vardı (Tablo 4).

Tablo 4. Hasta grubunun evre ve tutulum durumu

	Hasta Grubu	n(%)
Evre	1	4 (12,9)
	2	27 (87,1)
Tutulum	Akciğer	24 (%77,4)
	Akciğer, cilt	1 (%3,2)
	Akciğer ve ekstrapulmoner lenf nodu	2 (%6,4)
	Akciğer, böbrek	1 (%3,2)
	Akciğer, böbrek, ekstrapulmoner lenf nodu	1 (%3,2)
	Akciğer, cilt, GIS	2 (%6,4)
Toplam		31 (%100)

Hasta ve kontrol grubunda KAH, DM, KBY, hipotiroidi ve astım durumu değerlendirildiğinde KAH açısından hasta 17(%54,8) grubu ile kontrol 2(%11,1) grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık vardı ($\chi^2=9,172$; $p=0,002$). Diğer ek

hastalıklar olan DM (Hasta:14, Kontrol:16), hipotiroidi (Hasta:4, Kontrol:3) ve astım (Hasta:3, Kontrol:1) açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ($p>0,05$) (Tablo 5).

Tablo 5. Hasta ve Kontrol Grubunda KAH, DM, KBY, Hipotiroidi ve Astım Durumu

		Hasta Grubu n(%)	Kontrol Grubu n(%)	χ^2	P
KAH	Var	17(54,8)	2(11,1)	9,172	0,002
	Yok	14 (45,2)	16 (88,9)		
DM	Var	13 (41,9)	3 (16,7)	3,308	0,069
	Yok	18 (58,1)	15 (83,3)		
KBY	Var	0(0)	0 (0)	-	-
	Yok	31(100)	18 (100)		
Hipotiroidi	Var	4 (12,9)	3 (16,7)	0,132	0,717
	Yok	27 (87,1)	15 (83,3)		
Astım	Var	3(9,7)	1(5,6)	0,258	0,611
	Yok	28(90,3)	17(94,4)		

KAH:Koroner arter hastalığı DM: Diyabetes Mellitus KBY: Kronik böbrek yetmezliği

4.3. LABORATUVAR BULGULARI

Çalışmaya dahil edilen bireylerin laboratuvar bulguları değerlendirildiğinde; hasta grubunun kalsiyum değeri $12,058\pm 14,291(8,3-89)$ ile kontrol grubunun kalsiyum değeri $9,275\pm 0,484(8,36-10,2)$ arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ($Z=2,138$; $p=0,144$). Hasta grubunun FVC(%) değeri $101,71\pm 14,974(70-143)$, DLCO (%) değeri $77,258\pm 15,323(46-106)$ ve ACE değeri $53,555\pm 38,463(8,2-179,1)$ idi (Table 6).

Tablo 6. Her bir grubun demografik özellikleri ve laboratuvar bulguları

	Hasta (Ortalama \pm SS) (min-mak/range) (n=31)	Kontrol (Ortalama \pm SS) (min-mak/range) (n=19)	Z	p
Yaş (yıl)	$56,23\pm 9,625(31-74/43)$	$48\pm 15,979(25-87/62)$	-2,441	0,015*
Kalsiyum	$12,058\pm 14,291(8,3-89/80,7)$	$9,275\pm 0,484(8,36-10,2/1,84)$	1,379	0,168
FVC (%)	$101,71\pm 14,974(70-143/67)$	-	-	-
DLCO(%)	$77,258\pm 15,323(46-106/60)$	-	-	-
ACE	$53,555\pm 38,463(8,2-179/170,9)$	-	-	-

SS: Standart sapma Min: Minimum Mak: Maksimum FVC%: Forced vital capacity
DLCO%: diffusing capacity of the lungs for carbon monoxide ACE: Anjiotensin converting enzim

4.4. CCR2 (NM_001123396.4) GENİNDE YND SONUCU ELDE EDİLEN BULGULAR

Hasta ve kontrol grubunun *CCR2* (NM_001123396.4) geninde genotip 1’de tespit edilen varyasyonlara göre kıyaslama yapıldığında sırasıyla; NM_001123396.4:c.1044G>A (p.Thr348=) (rs3092960) varyasyonu (hasta:0, kontrol:2), NM_001123396.4(CCR2):c.156G>T (p.Val52=) (rs3918367) varyasyonu (hasta:2, kontrol:0), NM_001123396.4(CCR2):c.190G>A (p.Val64Ile) (rs1799864) varyasyonu (hasta:8, kontrol:6) ve NM_001123396.4:c.780T>C (p.Asn260=) (rs1799865) varyasyonu (hasta:18, kontrol:5) olarak tespit edildi ($\chi^2=10,350$; $p=0,035$) (Tablo 7, Şekil 5).

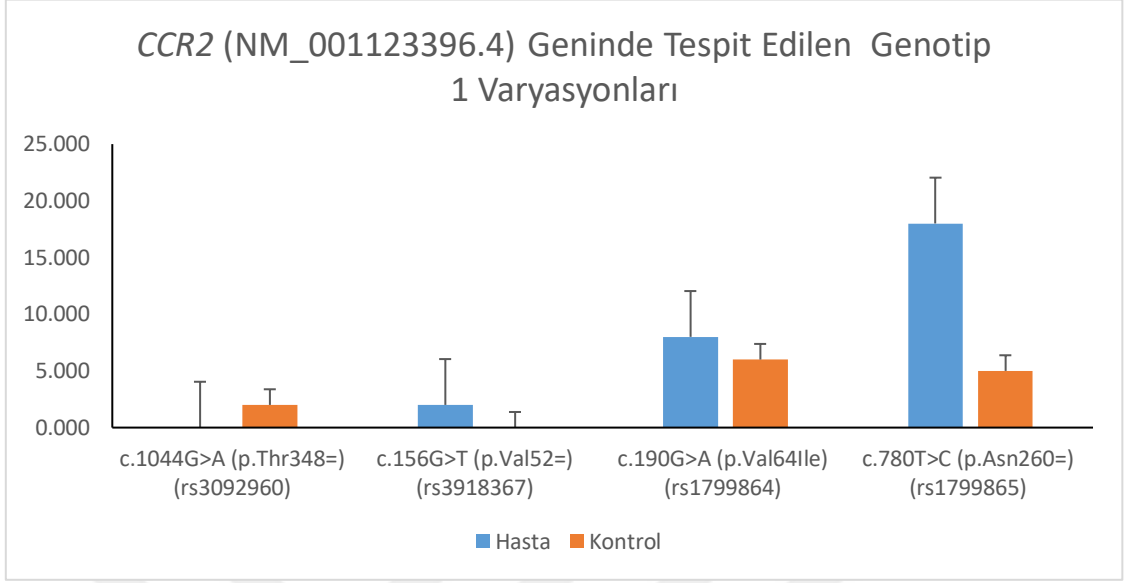
Tablo 7. Hasta ve kontrol grubunun *CCR2* (NM_001123396.4) geninde tespit edilen varyasyonlara göre kıyaslaması

<i>CCR2</i> (NM_001123396.4) Geninde Tespit Edilen Varyasyonlar		Hasta Grubu n (%)	Kontrol Grubu n(%)	χ^2 /p	
NM_001123396.4 <i>CCR2</i> Geni Genotip 1	NM_001123396.4:c.1044G>A (p.Thr348=) (rs3092960)	Var	0 (0)	10,350 / 0,035	
		Yok	31 (100)		
	NM_001123396.4(CCR2):c.156 G>T (p.Val52=) (rs3918367)	Var	2(6,5)		0 (0)
		Yok	29 (93,5)		19 (100)
	NM_001123396.4(CCR2):c.190 G>A (p.Val64Ile) (rs1799864)	Var	8 (25,8)		6 (31,6)
		Yok	23 (74,2)		13 (68,4)
	NM_001123396.4:c.780T>C (p.Asn260=) (rs1799865)	Var	18 (58,1)		5 (26,3)
		Yok	13 (41,9)		14 (73,7)
	Herhangi Bir Varyasyon	Var	28(90,3)		13(68,4)
		Yok	3(9,7)		6(31,6)
NM_001123396.4 <i>CCR2</i> Geni Genotip 2	NM_001123396.4:c.1044G>A (p.Thr348=) (rs3092960)	Var	3(9,7)	0,471 / 0,790	
		Yok	28 (90,3)		
	NM_001123396.4:c.780T>C (p.Asn260=) (rs1799865)	Var	6 (19,4)		3 (15,8)
		Yok	24 (80,6)		16 (84,2)
	Herhangi Bir Varyasyon	Var	9(29)		4(21,1)
Yok	22(71)	15(78,9)			

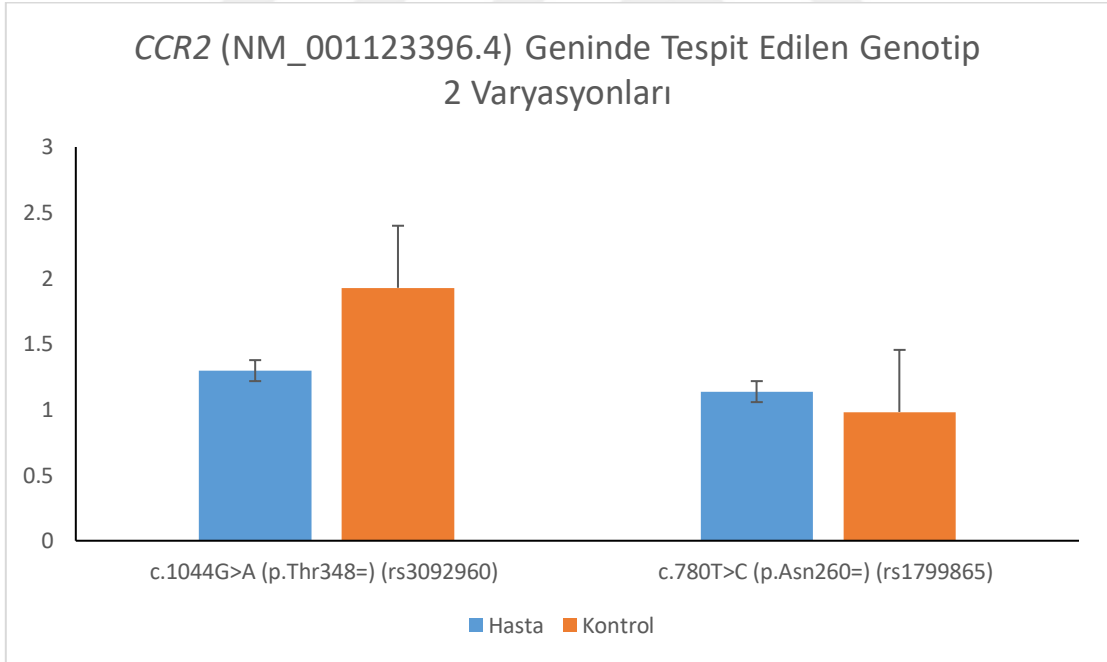
CCR2: C-C motif chemokine receptor 2 **Hom**: Homozigot **Het**: Heterozigot

Hasta ve kontrol grubunun *CCR2* (NM_001123396.4) geninde genotip 2’de tespit edilen varyasyonlara göre kıyaslama yapıldığında sırasıyla; NM_001123396.4:c.1044G>A (p.Thr348=) (rs3092960) varyasyonu (hasta:3, kontrol:1), NM_001123396.4:c.780T>C

(p.Asn260=) (rs1799865) varyasyonu (hasta:6, kontrol:3), olarak tespit edildi ($\chi^2=0,471$; $p=0,790$) (Tablo 7, Şekil 6).



Şekil 4. Hasta ve kontrol grubunun CCR2 (NM_001123396.4) geninde tespit edilen genotip 1 varyasyonlarının dağılımı



Şekil 5. Hasta ve kontrol grubunun CCR2 (NM_001123396.4) geninde tespit edilen genotip 2 varyasyonlarının dağılımı

Hasta ve kontrol grubunun CCR2 (NM_001123396.4) geninde genotip 1’de tespit edilen varyasyonların zigositeye göre kıyaslaması yapıldığında sırasıyla; NM_001123396.4:c.1044G>A (p.Thr348=) (rs3092960) Homozigot varyasyonu

(hasta:0, kontrol:1), NM_001123396.4:c.1044G>A (p.Thr348=) (rs3092960) Heterozigot varyasyonu (hasta:0, kontrol:1), NM_001123396.4(CCR2):c.156G>T (p.Val52=) (rs3918367) heterozigot varyasyonu (hasta:2, kontrol:0), NM_001123396.4(CCR2):c.190G>A (p.Val64Ile) (rs1799864) heterozigot varyasyonu (hasta:8, kontrol:6), NM_001123396.4:c.780T>C (p.Asn260=) (rs1799865) Homozigot varyasyon (hasta:7, kontrol:0) ve NM_001123396.4:c.780T>C (p.Asn260=) (rs1799865) heterozigot varyasyonu (hasta:11, kontrol:5) olarak tespit edildi ($\chi^2=12,368$; $p=0,054$) (Tablo 8, Şekil 7).

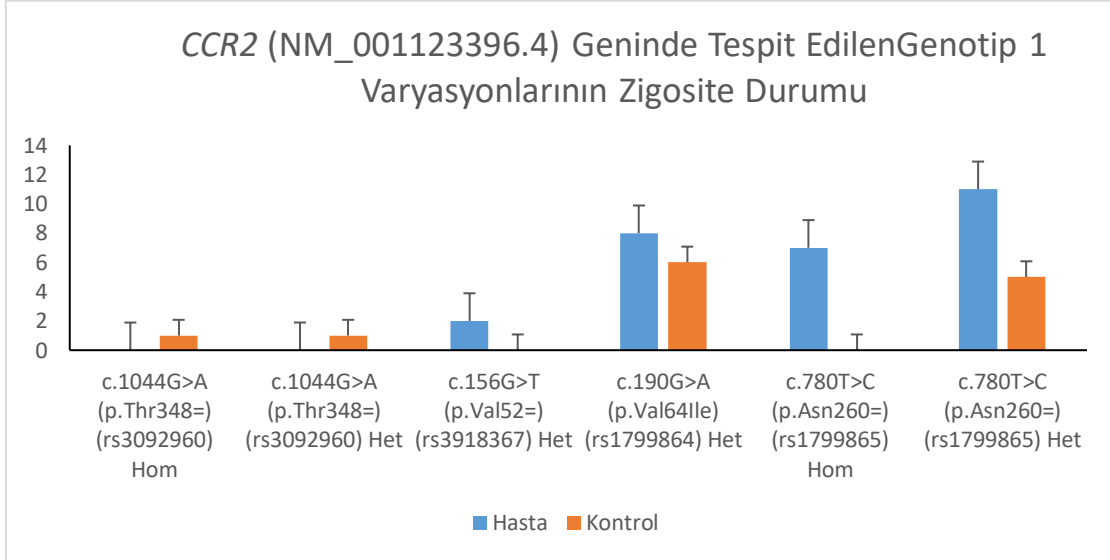
Tablo 8. Hasta ve kontrol grubunda CCR2 (NM_001123396.4) geninde tespit edilen varyasyonların zigositeye göre durumu

CCR2 (NM_001123396.4) Geninde Tespit Edilen Varyasyonlar		Hasta Grubu n (%)	Kontrol Grubu n (%)	χ^2 / p
NM_001123396.4 CCR2 Geni Genotip 1	NM_001123396.4:c.1044G>A (p.Thr348=) (rs3092960) Hom	Var 0 (0)	1 (5,3)	12,368 / 0,054
		Yok 31 (100)	18 (94,7)	
	NM_001123396.4:c.1044G>A (p.Thr348=) (rs3092960) Het	Var 0 (0)	1 (5,3)	
		Yok 31 (100)	18 (94,7)	
	NM_001123396.4(CCR2):c.156G>T (p.Val52=) (rs3918367) Het	Var 2(6,5)	0 (0)	
		Yok 29 (93,5)	19 (100)	
	NM_001123396.4(CCR2):c.190G>A (p.Val64Ile) (rs1799864) Het	Var 8 (25,8)	6 (31,6)	
		Yok 23 (74,2)	13 (68,4)	
	NM_001123396.4:c.780T>C (p.Asn260=) (rs1799865) Hom	Var 7 (22,6)	0 (0)	
		Yok 24 (78,4)	19 (100)	
	NM_001123396.4:c.780T>C (p.Asn260=) (rs1799865) Het	Var 11(35,5)	5 (26,3)	
		Yok 20 (64,5)	14 (73,7)	
Herhangi Bir Varyasyon		Var 28(90,3)	13(68,4)	
	Yok 3(9,7)	6(31,6)		
NM_001123396.4 CCR2 Geni Genotip 2	NM_001123396.4:c.1044G>A (p.Thr348=) (rs3092960) Het	Var 3(9,7)	1 (5,3)	1,002 / 0,801
		Yok 28 (90,3)	18 (94,7)	
	NM_001123396.4:c.780T>C (p.Asn260=) (rs1799865) Hom	Var 1(3,2)	0 (0)	
		Yok 30 (96,8)	19 (100)	
	NM_001123396.4:c.780T>C (p.Asn260=) (rs1799865) Het	Var 5(16,1)	3 (15,8)	
		Yok 26 (83,9)	16 (84,2)	
Herhangi Bir Varyasyon		Var 9(29)	4(21,1)	
	Yok 22(71)	15(78,9)		

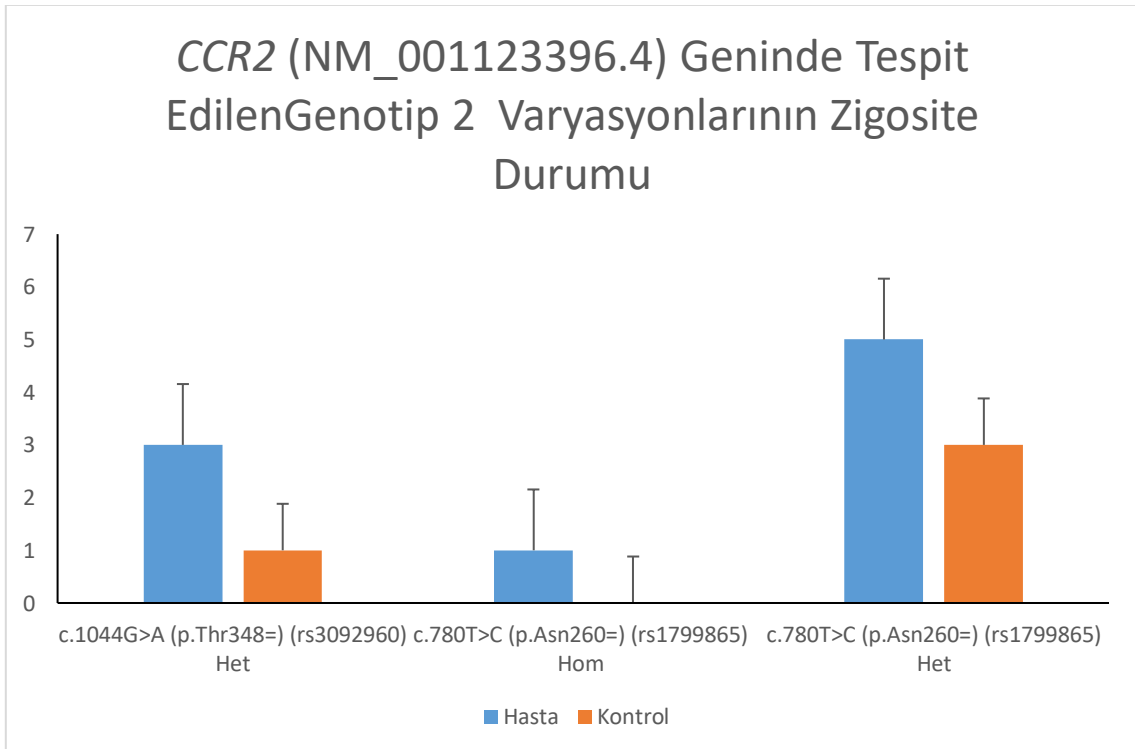
CCR2: C-C motif chemokine receptor 2 **Hom:** Homozigot **Het:** Heterozigot

Hasta ve kontrol grubunun CCR2 (NM_001123396.4) geninde genotip 2'de tespit edilen varyasyonların zigositeye göre kıyaslaması yapıldığında sırasıyla; NM_001123396.4:c.1044G>A (p.Thr348=) (rs3092960) heterozigot varyasyonu

(hasta:3, kontrol:1), NM_001123396.4:c.780T>C (p.Asn260=) (rs1799865) homozigot varyasyonu (hasta:1, kontrol:0) ve NM_001123396.4:c.780T>C (p.Asn260=) (rs1799865) heterozigot varyasyonu (hasta:5, kontrol:3) olarak tespit edildi ($\chi^2=1,002$; $p=0,801$) (Tablo 8, Şekil 8).



Şekil 6. Hasta ve kontrol grubunun CCR2 (NM_001123396.4) geninde tespit edilen genotip 1 varyasyonlarının zigosite durumu



Şekil 7. Hasta ve kontrol grubunun CCR2 (NM_001123396.4) geninde tespit edilen genotip 2 varyasyonlarının zigosite durumu

Hasta ve kontrol grubunda CCR2 (NM_001123396.4) geni genotip 1 ve 2'nin zigositesi durumuna göre bakıldığında hem genotip 1 hem de genotip 2 açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ($p>0,05$) (Tablo 9).

Tablo 9. Hasta ve kontrol grubunda CCR2 (NM_001123396.4) geni genotip 1 ve 2'nin zigosite durumu

CCR2 (NM_001123396.4) Geninde Tespit Edilen Varyasyonlar		Hasta Grubu n (%)	Kontrol Grubu n(%)	χ^2 /p
Genotip 1 Zigosite	Hom	7(22,6)	1(5,3)	4,266 / 0,118
	Het	20(64,5)	12(63,2)	
	Yok	4(12,9)	6(31,6)	
Genotip 2 Zigosite	Hom	1(3,2)	0(0)	0,776 / 0,678
	Het	5(16,1)	4(21,1)	
	Yok	25(80,6)	15(78,9)	

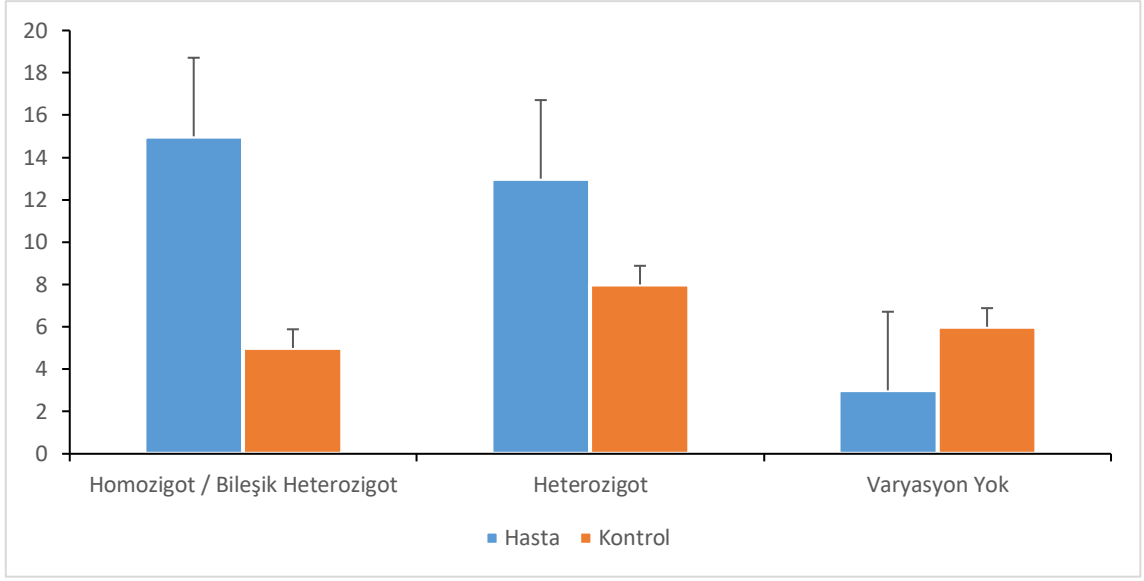
CCR2: C-C motif chemokine receptor 2 **Hom:** Homozigot **Het:** Heterozigot

Hasta ve Kontrol Grubunda CCR2 (NM_001123396.4) Gen varyasyonlarının homozigot/bileşik heterozigot, heterozigot durumuna göre kıyaslaması yapıldığında hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ($\chi^2=4,574$, $p=0,102$) (Tablo 10, Şekil 9).

Tablo 10. Hasta ve Kontrol Grubunda CCR2 (NM_001123396.4) Gen varyasyonlarının homozigot/bileşik heterozigot, heterozigot durumuna göre kıyaslaması

CCR2 (NM_001123396.4) Geninde Tespit Edilen Varyasyonlar		Hasta Grubu n (%)	Kontrol Grubu n(%)	χ^2 /p
Genotip / Zigosite	Hom/bileşik heterozigot	15(48,4)	5(26,3)	4,574 / 0,102
	Het	13(41,9)	8(42,1)	
	Yok	3(9,7)	6(31,6)	

CCR2: C-C motif chemokine receptor 2 **Hom:** Homozigot **Het:** Heterozigot



Şekil 8. Hasta ve Kontrol Grubunda CCR2 (NM_001123396.4) Gen varyasyonlarının homozigot/bileşik heterozigot, heterozigot ve varyasyon yok durumu

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Sarkoidoz, granülom oluşumuyla sonuçlanan hastalık bölgelerinde mononükleer hücrelerin birikmesi ile karakterize edilen, nedeni bilinmeyen bir multisistem hastalığıdır. Hastalığın, genetik olarak yatkın konakçılarda bilinmeyen çevresel antijenler tarafından tetiklendiği düşünülmektedir. Sarkoidozda klinik başlangıç ve ilerleme, iyi huylu, kendi kendini sınırlayan ve sıklıkla asemptomatik hastalıktan solunum yetmezliğine yol açan progresif pulmoner fibrozise kadar geniş bir yelpazede değişir.

Sarkoidoz gibi inflamatuvar hastalıklarla ilişkili olduğu düşünülen genetik faktörleri anlamak amacıyla *CCR2* geni üzerinde yapılan araştırmalar önemlidir. Sarkoidozun genetik belirleyicilerinin T-hücresi işlevini, antijen tanıma ve prosesin düzenlenmesini ve lenfositlerin ve mononükleer hücrelerin işleyişinde rol oynayan kemokinleri ve kemokin reseptörlerini etkileyen lokuslarda bulunması muhtemeldir. Monosit kemoatraktan proteinleri için ana reseptörlerden biri olan *CCR2*, monositlerin memory T hücrelerinin doğal öldürücü hücrelerin ve olgunlaşmamış dendritik hücrelerin toplanmasında önemli bir rol oynar ve bu da onu iyi bir aday yapar [151]-[155].

Bu çalışmada; sarkoidozun hastalığının, *CCR2* geninin tek nükleotid polimorfizmleri ile ilişkili olabileceğini varsaydık.

Müsellim B ve arkadaşlarının [6] Türkiye genelinde farklı sağlık merkezlerinden gelen sarkoidoz tanısı almış hastaların verilerinin geriye dönük olarak incelenmesini içeren bir çalışmada; hastaların demografik bilgileri, semptomları, tanı yöntemleri, organ tutulumu ve tedavi seçenekleri gibi bilgiler sorgulandı. 2 yılda 198 kadın ve 95 erkek hasta çalışmaya alındı, çalışmada kadın/erkek oranı; 2.08) ve yaş ortalaması 44 idi. Tek merkezli yaptığımız çalışmamızda da; Hasta grubunda 24(%77,4) bayan ve 7(%22,6) erkek varken, hasta grubunun yaş ortalaması; 56 idi. Çalışmamızda Türkiye geneline göre kadın oranı daha yüksek ve yaş ortalaması daha fazla idi.

Sarkoidozun veya hastalık alt kümelerinden birinin, *CCR2* geni ilişkili olabileceğini araştıran çalışmalar mevcuttur [156]-[159]. Spagnolo P. Ve arkadaşları [156] *CCR2*'deki sekiz tek nükleotid polimorfizmi toplam 304 Hollandalı bireyde (90 Löfgren dışı sarkoidoz, 47 Löfgren sendromu, 167 kontrol deneği) incelenmiş; incelenen *CCR2* polimorfizmlerinden dokuz haplotip çıkarılmıştır (haplotip 1-9). *CCR2*-haplotip 2 sıklığında kontrol deneklerine kıyasla güçlü bir artış gözlenirken ($p < 0.0001$), Löfgren

dışı sarkoidoz ve kontrol denekleri arasında fark bulunmamış. Sonuç olarak denmiş ki; *CCR2*-haplotip 2 ile Löfgren sendromu arasında güçlü bir ilişkiyi tanımlamaktadır. Bu çalışma da anlamlılık Löfgren sendromu alt tiplemesi olan hastalarda gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda löfgren alt tiplemesi hasta sayımız az olduğu için yapılmadı. Spangola ve arkadaşları da bizim çalışmamızda olduğu gibi Löfgren dışı sarkoidoz ve kontrol denekleri arasında fark bulmamıştır.

Japon bir popülasyonda *CCR2* gen polimorfizmi olan V64I (*CCR2*-64I) polimorfizminin sarkoidoz hastalığıyla ilişkisini araştıran bir çalışmada; Sağlıklı kontrol deneklerinde *CCR2*-64I sıklığı (%26.2), *CCR2*-64I'nin alelik sıklığı sarkoidozlu hastalarda %12.5 olarak bulmuşlardır. Bu çalışmada yazarlar sonuç olarak; *CCR2*-64I alelinin bu popülasyonda sarkoidoza karşı koruyucu bir faktör olabileceğini, bu bulguların doğrulanması için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu belirtmişlerdir [158].

Çek hastalarında pulmoner sarkoidozda *CCR2* gen polimorfizmlerini inceleyen bir çalışmada kemokin reseptör polimorfizmleri (replacement of valine by isoleucine in *CCR2* gene [64I], (32-bp deletion in *CCR5* gene [Delta32])) ile pulmoner sarkoidoz arasında bir ilişki olduğunu göstermiş. Birincil analiz (sarkoidozun bir bütün olarak kontrollerle karşılaştırılması) *CCR2*-64I alelinin azaldığını ve *CCR5*Δ32 alelinin sıklığında önemli bir artış olduğunu göstermiştir. Sarkoidozun kendiliğinden düzeldiği hastalarla karşılaştırıldığında tedavi gerektiren hastaların hastalık alt küme analizi, mutant *CCR5*Δ32 alelinin varlığının hastalığın daha belirgin klinik seyriyle sınırlı olduğunu göstermiş. Mutant *CCR5* aleline sahip olgular, bu alele sahip olmayanlara kıyasla tedavi gerektirmeye üç kat daha yatkın, yani mutant *CCR5* alelinin varlığı tedavi ihtiyacı için artmış bir göreceli risk (OR = 2,9) taşıdığını belirtmiş. Ayrıca, daha iyi huylu klinik seyre sahip vakalar (tedavi gerektirmeyenler) analizden çıkarıldığında, sarkoidozlu hastalarda ve kontrol bireylerinde *CCR5*Δ32 alel ve fenotip frekansları arasındaki fark oldukça anlamlı hale geldiğini göstermişlerdi. Böylelikle bu çalışma *CCR5*Δ32 ve *CCR2*-64I polimorfizmlerinin sarkoidoz duyarlılığı ve korunmasında rol oynayabileceğini düşündürmektedir. İlginç bir şekilde, *CCR5*Δ32 aleli, terapötik müdahaleye ihtiyaç duymayanlara kıyasla kortikosteroid gerektiren hastaların daha yüksek bir yüzdesinde mevcut olduğundan, klinik olarak daha belirgin hastalık ile ilişkilendirilbileceği söylenebilir [157]. Bizim çalışmamızda aldığımız tüm hastalar tedavi gerektirmeyen stabil takip ettiğimiz hastalardı. Gelecekteki çalışmalar da; Petrek ve arkadaşlarının çalışmasına dayanarak hastalığın prognozu açısından daha kapsamlı, geniş popülasyonlu

sarkoidozum tüm evrelerini çeren hasta grubunda kemokin ve kemokin reseptörlerinin rolü araştırılabilir.

Bu çalışmalardan yola çıkarak [156]-[158] Valentonyte R. Ve arkadaşarı [159]; Sarkoidozlu 1.203 hasta ve akrabalarından oluşan genişletilmiş bir örnekleme üç *CCR2* gen polimorfizmi (c.190G>A, c.840C>T ve c.4385A>T) çalışmışlar. Toplam 2.832 örnekten oluşan koleksiyonun tamamı (1.203 hasta, 1.084 akraba ve 545 kontrol bireyi) yüksek verimli bir ortamda üç single nükleotid polimorfizmi için genotiplendirilmiş. 938 Alman sarkoidoz hastasında ve 545 kontrol grubunda gözlemlenen %8'lik c.190A alel sıklığı (p = 0.53; OR, 1.09; CI, 0.83-1.45), Japon ve Çek hastalar için bildirildiği gibi bu alel ile azalmış sarkoidoz riski arasındaki ilişkiyi desteklemediğini, Aksine, sonuçlarının Hollanda [156] çalışma popülasyonlarından elde edilen bulguları doğruladığını belirtmişler.

Çalışmamızda; *CCR2* (NM_001123396.4) geninde tespit edilen genotip 1 varyasyonlarının dağılımında; NM_001123396.4(*CCR2*):c.156G>T (p.Val52=) (rs3918367) genotipi 2 hastada mevcut olup; kontrol grubunda saptanmamıştır. Populasyonumuz küçük olmakla beraber; yapılacak geniş populsayonlu çalışmalarda NM_001123396.4(*CCR2*):c.156G>T (p.Val52=) (rs3918367) genotipinin sarkoidoz hastalığı için yatkınlık yatkınlık oluşturup oluşturmayacağı araştırılabilir. NM_001123396.4:c.780T>C (p.Asn260=) (rs1799865) genotip 1 de hasta grubunda; 18 (%58,1) hastada bulunurken; genotip 2 de; 6 (%19,4) hastada pozitif bulunmuştur.

Sarkoidoz hastalığı genetik ve çevresel faktörlerden etkilendiği düşünülen bir hastalıktır. Farklı etnik gruplarda ortaya çıkış şeklinin ve kliniğinin de bu etkenlere göre farklı seyrettiğini bildiren çalışmalar mevcuttur. Çalışmamızın en büyük kısıtlılığı da; tek merkez bir çalışma olup; hastalığın nadir olmasından kaynaklanan hasta popülasyonumuzu küçük olmasıdır. Çalışmamızda sarkoidoz hastalığında evre ve tedavi gerektirmeme açısından büyük benzerlik yakalasadık da; kontrol ve hasta grubunun komorbiditeleri açısından benzerliğe ulaşamadık. Nadir görülen bir hastalıkta yeterli bir hasta popülasyonunu oluşturabilmek için komorbiditesi olan hastalarda çalışma dışı bırakılmadı. Bu nedenler genetik çalışmaların çok merkezli yapılabileğinin gerekliliğini göstermiştir. Ancak çalışmamız YND yöntemini kullanan nadir çalışmalardan olduğu için, çalışmamızın değerli olduğunu düşünmekteyiz.

Sarkoidoz, etiyojisi bilinmeyen, nadir görülen multisistem granüloamatöz bir hastalıktır ve çevresel faktörler, genetik özellikler ve immünolojik yanıtlar arasındaki karmaşık

etkileşimler gelişimine katkıda bulunabilir. Sonuç olarak, sarkoidozun patogenezi karmaşıktır ve birçok genetik ve çevresel faktörü içerir.

Sadece kısmen anlaşılmış olsa da, sarkoidoza genetik yatkınlık karmaşık ve çok faktörlüdür; çeşitli genetik mimariler ve maruziyetler/tetikleyiciler muhtemelen hastalık patogenezinde rol oynar. Fenotipik ve etnik açıdan homojen hasta alt gruplarının incelenmesi, kullanılan genetik yaklaşımdan bağımsız olarak kritik öneme sahiptir. Gözlemlenen ilişkiler daha sonra hastalık ve fenotip riski ve patogenezinde rol oynayan ortak veya farklı genler olup olmadığını göstermek için diğer fenotipik ve etnik gruplarda araştırılabilir.

Son yıllarda, karmaşık hastalıkların etyopatogenezinin daha iyi anlaşılabilmesi için GWAS (Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları), tüm ekzom dizileme, tüm genom dizileme, proteomik, tek hücre bazında RNA dizileme kullanılmaya başlanmıştır. Sarkoidozun etyopatogenezinin daha iyi anlaşılabilmesi için bu yeni nesil teknolojilerin kullanıldığı ilave çalışmaların yapılması önemlidir. Ayrıca; Mesleki veya enfeksiyöz ajanlar gibi belirli çevresel maruziyetlerin, hastalık riskini ve fenotipi modüle etmek için *CCR2* varyantları ile etkileşime girip girmediğide araştırılabilir.

Sonuç olarak; çalışmamızda NM_001123396.4(*CCR2*):c.156G>T(p.Val52=)(rs3918367) ve NM_001123396.4:c.780T>C(p.Asn260=)(rs1799865) varyasyonları hasta grubunda kontrol grubundan anlamlı derecede yüksekti ($p<0,05$). Tespit edilen bu *CCR2* varyasyonların sarkoidozun etyopatogenezindeki rolünün daha iyi anlaşılabilmesi için *CCR2* geninin YND ile tarandığı geçmiş serileri içeren ilave çalışmalara ihtiyaç vardır.

Gelecekte yapılacak çalışmalar, *CCR2* gen polimorfizmleri ve sarkoidoz arasındaki ilişki hakkındaki mevcut çalışmamızda dahil olmak üzere önceki araştırmaların bulgularını çoğaltmayı amaçlamalıdır. Bu, gözlemlenen ilişkileri doğrulamak için farklı popülasyonlarda daha büyük, iyi tasarlanmış genetik ilişkilendirme çalışmalarının yürütülmesini içerebilir. Bunlara ilaveten sarkoidoz ile ilişkili *CCR2* gen varyantlarının fonksiyonel sonuçlarının araştırılması, bu varyantların *CCR2* ekspresyonunu, reseptör fonksiyonunu, hücresel sinyal iletim yollarını ve bağışıklık tepkilerini nasıl etkilediğini anlamak için çalışmalar tasarlanabilir. Ayrıca bağışıklık hücrelerinin aktivasyonu, sitokin ve kemokin düzenlemesi, granülom oluşumu ve hastalığın etyopatogenezinde rol alan diğer genlerle *CCR2* geninin ilişkilerin araştırılmasında önemlidir. Bu, belirli *CCR2* varyantlarıyla ilişkili farklı moleküler ve klinik özelliklerin ortaya çıkarılmasına yardımcı

olabileceği gibi teşhis, tedavi ve prognoz için kişiselleştirilmiş yaklaşımlara rehberlik edebilir.

Sarkoidoz her ne kadar ılımlı seyretme olasılığı yüksek olsa da; tedaviye yanıt alınmayan ağır tutulumları da mevcuttur. Yapılacak genetik çalışmalar, hastalığın ilerlemesi, tedaviye yanıt ve spesifik genetik profillerle ilişkili komplikasyonların veya organ tutulumunun gelişimi hakkında fikir verebilir. *CCR2* modülatörlerinin veya inhibitörlerinin hastalık ilerlemesi, granülom çözünürlüğü ve bağışıklık tepkileri üzerindeki etkilerini değerlendirmek için hayvan modellerini kullanan preklinik çalışmalar tasarlanabilir. Bunlara ilaveten, sarkoidozlu hastalarda *CCR2*-hedefli tedavilerin etkinliğini ve güvenliğini değerlendirmek için klinik çalışmalar yapılabilir. Mevcut çalışmamızda öncülük edeceğini düşündüğümüz gelecekteki çalışmalar, *CCR2* geninin sarkoidozun etyopatogenezindeki rolünün daha iyi anlaşılmasına ve hastalığın daha erken tanısı ile hastalığın yönetiminde daha etkili tedavi stratejisinin geliştirilmesine öncülük edebilir.

6. KAYNAKLAR

- [1]. Sharma, O. P, "Definition and history of sarcoidosis." *European Respiratory Monograph*, 32, 1-12, 2005.
- [2]. Boeck, C, "Multiple benign sarcoid of the skin." *Norsk Mag Laegevid*, 14, 1321-1345, 1899.
- [3]. Statement on sarcoidosis. Joint Statement of the American Thoracic Society (ATS), the European Respiratory Society (ERS), and the World Association of Sarcoidosis and Other Granulomatous Disorders (WASOG) adopted by the ATS Board of Directors and by the ERS Executive Committee, February 1999. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 160(2), 736-755, 1999.
- [4]. James, D. G, "Descriptive definition and historic aspects of sarcoidosis." *Clinical Chest Medicine*, 18(4), 663-679, 1997.
- [5]. Kartaloğlu, Z. "Sarkoidoz." *Göğüs Hastalıkları*, 1. Baskı, Ankara, Türkiye: Solunum Araştırmaları Derneği, 2019, 200-227.
- [6]. Musellim, B., Kumbasar, O. O., Ongen, G., et al, "Epidemiological features of Turkish patients with sarcoidosis." *Respiratory Medicine*, 103(6), 907-912, 2009.
- [7]. Hunninghake, G. W., Costabel, U., Ando, M., et al, "ATS/ERS/WASOG statement on sarcoidosis. American Thoracic Society/European Respiratory Society/World Association of Sarcoidosis and other Granulomatous Disorders." *Sarcoidosis Vascular Diffuse Lung Diseases*, 16(2), 149-173, 1999.
- [8]. Rybicki, B. A., Iannuzzi, M. C., Frederick, M. M., et al, "Familial aggregation of sarcoidosis. A case-control etiologic study of sarcoidosis (ACCESS)." *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 164(11), 2085-2091, 2001.
- [9]. Sverrild, A., Backer, V., Kyvik, K. O., Kaprio, J., Milman, N., Svendsen, C. B., & Thomsen, S. F, "Heredity in sarcoidosis: a registry-based twin study." *Thorax*, 63(10), 894-896, 2008.
- [10]. Garman, L., Pezant, N., Pastori, A., Savoy, K. A., Li, C., Levin, A. M., et al, "Genome-Wide Association Study of Ocular Sarcoidosis Confirms HLA Associations and Implicates Barrier Function and Autoimmunity in African Americans." *Ocular Immunology and Inflammation*, 17;29(2):244-249, 2020.
- [11]. Zaessinger, S., Zhou, Y., Bray, S. J., Tapon, N., & Djiane, A, "Drosophila MAGI interacts with RASSF8 to regulate E-Cadherin-based adherens junctions in the developing eye." *Development*, 142, 1102–1112, 2015.
- [12]. Schürmann, M., Reichel, P., Müller-Myhsok, B., Schlaak, M., Müller-Quernheim, J., & Schwinger, E, "Results from a genome-wide search for predisposing genes in sarcoidosis." *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 164(5), 840-846, 2001.

- [13]. Nguyen, T., Liu, X. K., Zhang, Y., & Dong, C, "BTNL2, a Butyrophilin-Like Molecule That Functions to Inhibit T Cell Activation." *Journal of Immunology*, 176, 7354–7360, 2006.
- [14]. Chaperon, M., Pacheco, Y., Maucort-Boulch, D., Iwaz, J., Perard, L., Broussolle, C., et al, "BTNL2 gene polymorphism and sarcoid uveitis." *British Journal of Ophthalmology*, 103, 1690–1694, 2019.
- [15]. Rossides, M., Grunewald, J., Eklund, A., Kullberg, S., Di Giuseppe, D., Askling, J., et al, "Familial aggregation and heritability of sarcoidosis: a Swedish nested case-control study." *European Respiratory Journal*, 16;52(2):1800385, 2018.
- [16]. Moller, D. R., Rybicki, B. A., Hamzeh, N. Y., Montgomery, C. G., Chen, E. S., Drake, W., & Fontenot, A. P, "Genetic, Immunologic, and Environmental Basis of Sarcoidosis." *Annals of the American Thoracic Society*, 14(Supplement_6), S429-S436, 2017.
- [17]. Mayer, A. S., Hamzeh, N., & Maier, L. A, "Sarcoidosis and chronic beryllium disease: similarities and differences." *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 35, 316–329, 2014.
- [18]. Izbicki, G., Chavko, R., Banauch, G. I., Weiden, M. D., Berger, K. I., Aldrich, T. K., et al, "World Trade Center "sarcoid-like" granulomatous pulmonary disease in New York City Fire Department rescue workers." *Chest*, 131, 1414–1423, 2007.
- [19]. Judson, M. A., & Baughman, R. P, "How many organs need to be involved to diagnose sarcoidosis? An unanswered question that, hopefully, will become irrelevant." *Sarcoidosis Vascular Diffuse Lung Diseases*, 31, 6–7, 2014.
- [20]. Rafnsson, V., Ingimarsson, O., Hjalmarsson, I., & Gunnarsdottir, H, "Association between exposure to crystalline silica and risk of sarcoidosis." *Occupational and Environmental Medicine*, 55, 657–660, 1998.
- [21]. Ramos-Casals, M., Mañá, J., Nardi, N., Brito-Zerón, P., Xaubet, A., Sánchez-Tapias, J. M., et al, "HISPAMEC Study Group. Sarcoidosis in patients with chronic hepatitis C virus infection: analysis of 68 cases." *Medicine (Baltimore)*, 84, 69–80, 2005.
- [22]. Su, R., Li, M. M., Bhakta, N. R., Solberg, O. D., Darnell, E. P., Ramstein, J., et al, "Longitudinal analysis of sarcoidosis blood transcriptomic signatures and disease outcomes." *European Respiratory Journal*, 44, 985–993, 2014.
- [23]. Zhou, T., Zhang, W., Sweiss, N. J., Chen, E. S., Moller, D. R., Knox, K. S., et al, "Peripheral blood gene expression as a novel genomic biomarker in complicated sarcoidosis." *PLoS One*, 7(9), e44818, 2012.
- [24]. Ten Berge, B., Paats, M. S., Bergen, I. M., van den Blink, B., Hoogsteden, H. C., Lambrecht, B. N., et al, "Increased IL-17A expression in granulomas and in circulating memory T cells in sarcoidosis." *Rheumatology (Oxford)*, 51, 37–46, 2012.

- [25]. Ramstein, J., Broos, C. E., Simpson, L. J., Ansel, K. M., Sun, S. A., Ho, M. E., et al, "IFN- γ -producing T-helper 17.1 cells are increased in sarcoidosis and are more prevalent than T-helper type 1 cells." *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 193, 1281–1291, 2016.
- [26]. Ostadkarampour, M., Eklund, A., Moller, D., Glader, P., Olgart Höglund, C., Lindén, A., et al, "Higher levels of interleukin IL-17 and antigen-specific IL-17 responses in pulmonary sarcoidosis patients with Löfgren's syndrome." *Clinical and Experimental Immunology*, 178, 342–352, 2014.
- [27]. Pagán, A. J., Ramakrishnan, L., "Immunity and immunopathology in the tuberculous granuloma." *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 5, a018499, 2014.
- [28]. Wikén, M., Ostadkarampour, M., Eklund, A., Willett, M., Chen, E., Moller, D., et al, "Antigen-specific multifunctional T-cells in sarcoidosis patients with Lofgren's syndrome." *European Respiratory Journal*, 40, 110–121, 2012.
- [29]. Gabrilovich, M. I., Walrath, J., van Lunteren, J., Nethery, D., Seifu, M., Kern, J. A., et al, "Disordered Toll-like receptor 2 responses in the pathogenesis of pulmonary sarcoidosis." *Clinical and Experimental Immunology*, 173, 512–522, 2013.
- [30]. Chen, E. S., Song, Z., Willett, M. H., Heine, S., Yung, R. C., Liu, M. C., et al, "Serum amyloid A regulates granulomatous inflammation in sarcoidosis through Toll-like receptor-2." *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 181, 360–373, 2010.
- [31]. Migita, K., Koga, T., Torigoshi, T., Motokawa, S., Maeda, Y., Jiuchi, Y., et al, "Induction of interleukin-23 p19 by serum amyloid A (SAA) in rheumatoid synoviocytes." *Clinical and Experimental Immunology*, 162, 244–250, 2010.
- [32]. Sun, L., Zhou, H., Zhu, Z., Yan, Q., Wang, L., Liang, Q., et al, "Ex vivo and in vitro effect of serum amyloid a in the induction of macrophage M2 markers and efferocytosis of apoptotic neutrophils." *Journal of Immunology*, 194, 4891–4900, 2015.
- [33]. Rubinstein, I., Knecht, A., de Beer, F. C., Baum, G. L., Pras, M., "Serum amyloid-A protein concentrations in sarcoidosis." *Israel Journal of Medical Sciences*, 25, 461–462, 1989.
- [34]. Hillerdal, G., Nou, E., Osterman, K., Schmekel, B., "Sarcoidosis: epidemiology and prognosis. A 15-year European study." *American Review of Respiratory Disease*, 130(1), 29–32, 1984.
- [35]. Lynch 3rd, J. P., Kazerooni, E. A., Gay, S. E., "Pulmonary sarcoidosis." *Clinical Chest Medicine*, 18(4), 755–768, 1997.
- [36]. Reich, J. M., "Mortality of intrathoracic sarcoidosis in referral vs population-based settings: influence of stage, ethnicity, and corticosteroid therapy." *Chest*, 121(1), 32–39, 2002.

- [37]. Hendrick, D. J., Blackwood, R. A., Black, J. M., "Chest pain in the presentation of sarcoidosis." *British Journal of Diseases of the Chest*, 70(3), 206–210, 1976.
- [38]. Cappell, M. S., "Endoscopic, radiographic, and manometric findings in dysphagia associated with sarcoid due to extrinsic esophageal compression from subcarinal lymphadenopathy." *American Journal of Gastroenterology*, 90(3), 489–492, 1995.
- [39]. Judson, M. A., Boan, A. D., Lackland, D. T., "The clinical course of sarcoidosis: Presentation, diagnosis, and treatment in a large white and black cohort in the United States." *Sarcoidosis, Vasculitis, and Diffuse Lung Diseases*, 29, 119–127, 2012.
- [40]. Jain, R., Yadav, D., Puranik, N., Guleria, R., Jin, J. O., "Sarcoidosis: Causes, diagnosis, clinical features, and treatments." *Journal of Clinical Medicine*, 9, 1081, 2020.
- [41]. Criado, E., Sánchez, M., Ramírez, J., Arguis, P., de Caralt, T. M., Perea, R. J., et al, "Pulmonary sarcoidosis: Typical and atypical manifestations at high resolution CT with pathologic correlation." *Radiographics*, 30, 1567-1586, 2010.
- [42]. Ozgul, M., Cetinkaya, E., Kirkil, G., Ozgul, G., Abul, Y., Acat, M., et al, "Lymph node characteristics of sarcoidosis with endobronchial ultrasound." *Endoscopic Ultrasound*, 3, 232-237, 2014.
- [43]. Koo, H. J., Kim, M. Y., Shin, S. Y., Shin, S., Kim, S. S., Lee, S. W., et al, "Evaluation of mediastinal lymph nodes in sarcoidosis, sarcoid reaction, and malignant lymph nodes using CT and FDG PET/CT." *Medicine (Baltimore)*, 94, e1095, 2015.
- [44]. Robinson, L. A., Smith, P., Sengupta, D. J., Prentice, J. L., Sandin, R. L., "Molecular analysis of sarcoidosis lymph nodes for microorganisms: A case control study with clinical correlates." *BMJ Open*, 3, e004065, 2013.
- [45]. Pasadhika, S., Rosenbaum, J. T., "Ocular sarcoidosis." *Clin Chest Med*, 36, 669-683, 2015.
- [46]. Raevis, J. J., Antonova, N., Agemy, S., "Ocular involvement in sarcoidosis." *J Rheumatol*, 45, 580, 2018.
- [47]. Kansal, V., Dollin, M., "Ocular involvement in sarcoidosis." *CMAJ*, 189, E609, 2017.
- [48]. Ungprasert, P., Ryu, J. H., Matteson, E. L., "Clinical manifestations, diagnosis, and treatment of sarcoidosis." *Mayo Clinic Proceedings: Innovations, Quality & Outcomes*, 3, 358-375, 2019.
- [49]. Sreeja, C., Priyadarshini, A., Premika, N., Nachiammai, N., "Sarcoidosis - A review article." *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 26(2), 242-253, 2022.

- [50]. Conte, G., Zugni, F., Colleoni, M., Renne, G., Bellomi, M., Petralia, G, "Sarcoidosis with bone involvement mimicking metastatic disease at (18) F FDG PET/CT: Problem solving by diffusion whole body MRI." *Ecancermedicalscience*, 9, 537, 2015.
- [51]. Hercules, H. D., & Bethlem, N. M, "Value of liver biopsy in sarcoidosis." *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, 108, 831-834, 1984.
- [52]. Nessrine, A., Zahra, A. F., & Taoufik, H, "Musculoskeletal involvement in sarcoidosis." *Jornal Brasileiro de Pneumologia*, 40, 175-182, 2014.
- [53]. Al Kofahi, K., Korsten, P., Ascoli, C., Virupannavar, S., Mirsaeidi, M., Chang, I., et al, "Management of extrapulmonary sarcoidosis: Challenges and solutions." *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 12, 1623-1634, 2016.
- [54]. Berliner, A. R., Haas, M., & Choi, M. J, "Sarcoidosis: The nephrologist's perspective." *American Journal of Kidney Diseases*, 48, 856-870, 2006.
- [55]. Longcope, W. T., & Freiman, D. G, "A study of sarcoidosis; based on a combined investigation of 160 cases including 30 autopsies from The Johns Hopkins Hospital and Massachusetts General Hospital." *Medicine (Baltimore)*, 31, 1-132, 1952.
- [56]. Birnie, D. H., Kandolin, R., Nery, P. B., & Kupari, M, "Cardiac manifestations of sarcoidosis: Diagnosis and management." *European Heart Journal*, 38, 2663-2670, 2017.
- [57]. Kandolin, R., Lehtonen, J., Airaksinen, J., Vihinen, T., Miettinen, H., Ylitalo, K., et al, "Cardiac sarcoidosis: Epidemiology, characteristics, and outcome over 25 years in a nationwide study." *Circulation*, 131, 624-632, 2015.
- [58]. Ibitoye, R. T., Wilkins, A., & Scolding, N. J, "Neurosarcoidosis: A clinical approach to diagnosis and management." *Journal of Neurology*, 264, 1023-1028, 2017.
- [59]. Lacomis, D, "Neurosarcoidosis." *Current Neuropharmacology*, 9, 429-436, 2011.
- [60]. Pawate, S., Moses, H., & Sriram, S, "Presentations and outcomes of neurosarcoidosis: A study of 54 cases." *QJM*, 102, 449-460, 2009.
- [61]. Ungprasert, P., & Matteson, E. L, "Neurosarcoidosis." *Rheumatic Disease Clinics of North America*, 43, 593-606, 2017.
- [62]. Carlson, M. L., White, J. R., Jr., Espahbodi, M., Haynes, D. S., Driscoll, C. L., Aksamit, A. J., et al, "Cranial base manifestations of neurosarcoidosis: A review of 305 patients." *Otology & Neurotology*, 36, 156-166, 2015.
- [63]. Murialdo, G., & Tamagno, G, "Endocrine aspects of neurosarcoidosis." *Journal of Endocrinological Investigation*, 25, 650-662, 2002.

- [64]. Tamagno, G., & Murialdo, G, "Amenorrhea galactorrhea syndrome as an uncommon manifestation of isolated neurosarcoidosis." *Annali Italiani di Medicina Interna*, 16, 260-266, 2001.
- [65]. Bullmann, C., Faust, M., Hoffmann, A., Heppner, C., Jockenhövel, F., Müller Wieland, D., et al, "Five cases with central diabetes insipidus and hypogonadism as first presentation of neurosarcoidosis." *European Journal of Endocrinology*, 142, 365, 2000.
- [66]. Nozaki, K., & Judson, M. A, "Neurosarcoidosis: Clinical manifestations, diagnosis and treatment." *Presse Medicale*, 41, 331-348, 2012.
- [67]. Crouser, E. D., Maier, L. A., Wilson, K. C., et al, "Diagnosis and Detection of Sarcoidosis. An Official American Thoracic Society Clinical Practice Guideline." *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 201(8), e26-e51, 2020.
- [68]. Carmona, E. M., Kalra, S., & Ryu, J. H, "Pulmonary sarcoidosis: Diagnosis and treatment." *Mayo Clinic Proceedings*, 91, 946-954, 2016.
- [69]. Lower, E. E., & Baughman, R. P, "The use of low dose methotrexate in refractory sarcoidosis." *American Journal of Medicine Science*, 299, 153-157, 1990.
- [70]. Marchell, R. M., & Judson, M. A, "Cutaneous sarcoidosis." *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 31, 442-451, 2010.
- [71]. Chareonthaitawee, P., Beanlands, R. S., Chen, W., Dorbala, S., Miller, E. J., Murthy, V. L., et al, "Joint SNMMI-ASNC expert consensus document on the role of 18F-FDG PET/CT in cardiac sarcoid detection and therapy monitoring." *Journal of Nuclear Cardiology*, 24, 1741-1758, 2017.
- [72]. Kasamatsu, A., Kanazawa, H., Watanabe, T., Matsuzaki, O, "Oral sarcoidosis: Report of a case and review of literature." *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 65, 1256-1259, 2007.
- [73]. Rollins, B. J, "Chemokines." *Blood*, 90, 909-928, 1997.
- [74]. Zlotnik, A., Yoshie, O, "The chemokine and chemokine receptor superfamilies and their molecular evolution." *Genome Biology*, 7, 243, 2006.
- [75]. Baggiolini, M., Dewald, B., Moser, B, "Human chemokines: An update." *Annual Review of Immunology*, 15, 675-705, 1997.
- [76]. Luster, A. D, "Chemokines-chemotactic cytokines that mediate inflammation." *New England Journal of Medicine*, 338, 436-445, 1998.
- [77]. Murdoch, C., & Finn, A, "Chemokine receptors and their role in inflammation and infectious diseases." *Blood*, 95, 3032-3043, 2000.
- [78]. Wenzel, U. O., & Stahi, R. A. K, "Chemokines, renal disease, and HIV infection." *Nephron*, 81, 5-16, 1999.

- [79]. Çağlar, M., & Kansu, E, "Kemokinler, kemokin reseptörleri ve inflamasyon." *ANKEM Dergisi*, 18(Ek2), 164-168, 2004.
- [80]. Matsushima, K., Larsen, C. G., DuBois, G. C., Oppenheim, J. J, "Purification and characterization of a novel monocyte chemotactic and activating factor produced by a human myelomonocytic cell line." *Journal of Experimental Medicine*, 169, 1485-1490, 1989.
- [81]. Van Coillie, E., Van Damme, J., Opdenakker, G, "The MCP/eotaxin subfamily of CC chemokines." *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 10, 61-86, 1999.
- [82]. Deshmane, S. L., Kremlev, S., Amini, S., Sawaya, B. E, "Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): An overview." *Journal of Interferon & Cytokine Research*, 29, 313-326, 2009.
- [83]. Ransohoff, R. M, "The chemokine system in neuroinflammation: An update." *Journal of Infectious Diseases*, 186(Supplement_2), 152-156, 2002.
- [84]. Monteclaro, F. S., & Charo, I. F, "The amino-terminal extracellular domain of the MCP-1 receptor, but not the RANTES/MIP-1 α receptor, confers chemokine selectivity. Evidence for a two-step mechanism for MCP-1 receptor activation." *Journal of Biological Chemistry*, 271, 19084-19092, 1996.
- [85]. Monteclaro, F. S., & Charo, I. F, "The amino-terminal domain of CCR2 is both necessary and sufficient for high affinity binding of monocyte chemoattractant protein 1. Receptor activation by a pseudo-tethered ligand." *Journal of Biological Chemistry*, 272, 23186-23190, 1997.
- [86]. Caramori, G., Di Stefano, A., Casolari, P., Kirkham, P. A., Padovani, A., Chung, K. F., Papi, A., Adcock, I. M, "Chemokines and chemokine receptor blockers as new drugs for the treatment of chronic obstructive pulmonary disease." *Current Medicinal Chemistry*, 20(35), 4317-4349, 2013.
- [87]. Lukacs, N. W., Miller, A. L., Hogaboam, C. M, "Chemokine receptors in asthma: Searching for the correct immune targets." *Journal of Immunology*, 171(1), 11-15, 2003.
- [88]. Keane, M. P, "The role of chemokines and cytokines in lung fibrosis." *European Respiratory Review*, 17, 151-156, 2008.
- [89]. Oldstone, M. B., Teijaro, J. R., Walsh, K., Rosen, H, "Dissecting influenza virus pathogenesis uncovers a novel chemical approach to combat the infection." *Virology*, 435(1), 92-101, 2013.
- [90]. Tomankova, T., Kriegova, E., Liu, M, "Chemokine receptors and their therapeutic opportunities in diseased lung: far beyond leukocyte trafficking." *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 308(7), L603-L618, 2015.
- [91]. Yesildag, K., Kokulu, K., Mutlu, H., Erozu, R., Sert, E. T., Saritas, A, "Argyrophilic nucleolar organizer regions as a promising biomarker for the

detection of brain hypoxia levels caused by different doses of carbon monoxide poisoning." *Gaceta Medica de Mexico*, 157(6), 630-637, 2021.

- [92]. Tasdemir, S., Eroz, R., Cucer, N., Oktay, M., Turkeli, M, "Comparison of fine needle aspiration biopsy and paraffin-embedded tissue sections for measuring AgNOR proteins." *Biotechnic & Histochemistry*, 90(5), 395-399, 2015.
- [93]. Kabaklioglu, M., Eroz, R., Kaya, M, "Evaluation of the Effects of Rapamycin Treatment on Antioxidant Enzyme Changes and AgNOR in Testicular Torsion." *Konuralp Medical Journal*, 13(1), 45-54, 2021.
- [94]. Damar, İ. H., Eroz, R, "May Argyrophilic Nucleolar Organizer Regions Be the New Marker of a Hypoxic Response in Non-ST Elevation Myocardial Infarction?" *Konuralp Medical Journal*, 14(1), 132-141, 2022.
- [95]. Tasdemir, S., Eroz, R., Dogan, H., Erdem, H. B., Sahin, I., Kara, M., Engin, R. I., Turkez, H, "Association Between Human Hair Loss and the Expression Levels of Nucleolin, AU1c Nucleophosmin, and UBTF Genes." *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, 20(4), 197-202, 2016.
- [96]. Gulhan, P. Y., Eroz, R., Ataoglu, O., Ince, N., Davran, F., Ozturk, C. E., Gamsızkan, Z., Balbay, O. A, "The evaluation of both the expression and serum protein levels of Caspase-3 gene in patients with different degrees of SARS-CoV2 infection." *Journal of Medical Virology*, 94, 897-905, 2022.
- [97]. Acat, M., Yıldız Gülhan, P., Eröz, R., Ertınmaz Özkan, A., Koca, O., Çınar, C, "Evaluation of both expression and serum protein levels of caspase-8 and mitogen-activated protein kinase 1 genes in patients with different severities of COVID-19 infection." *Molecular Biology Reports*, 1-8, 2023.
- [98]. Akın, G., Esbah, O., Eröz, R, "Could nucleolin and nucleophosmin levels be a prognostic indicator in non-small-cell lung cancer?" *Acta Facultatis Medicae Naissensis*, 39(4), 433-442, 2022.
- [99]. Kaya, M., Eroz, R., Kabakliogli, M, "Expression of nucleolin, nucleophosmin, upstream binding transcription factor genes, and propolis in wound models." *Journal of Wound Care*, 31(Sup10), 28-40, 2022.
- [100]. Kabaklioglu, M., Eroz, R., Kaya, M, "May Argyrophilic Nucleolar Organizer Regions Be Used as a Biomarker for the Detection of the Degree of Ischemic Damage Instead of Tunel in Testicular Torsion?" *Medicina*, 57, 1177, 2022.
- [101]. Kurt, F., Eroz, R., Kocabay, K, "Evaluation of Apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD, TNF Like Factor 1a and B Cell Chemoattractant Chemokine Ligand 13 expression profiles in patients with Familial Mediterranean Fever." *Konuralp Medical Journal*. 15 (1) , 59-68, 2023.
- [102]. Margulies, M., Egholm, M., Altman, W. E., Attiya, S., Bader, J. S., Bemben, L. A., et al, "Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors." *Nature*, 437(7057), 376-380, 2005.

- [103]. Doğan, M., Eröz, R., Yüce, H., Özmerdivenli, R "Yeni Nesil Dizileme (YND) Hakkında Bilinenler (Literatür Taraması)." *Duzce Medical Journal*, 19(1), 27-30, 2018.
- [104]. Buermans, H. P., den Dunnen, J. T, "Next-generation sequencing technology: Advances and applications." *Biochimica et Biophysica Acta*, 1842(10), 1932-1941, 2014.
- [105]. Miller, D. T., Adam, M. P., Aradhya, S., Biesecker, L. G., Brothman, A. R., Carter, N. P., et al, "Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies." *American Journal of Human Genetics*, 86(5), 749-764, 2010.
- [106]. Türay, S., Eröz, R., Habiloğlu, E., Say, N. M, "The Relationship Between Clinical Phenotypes and Chromosomal Microdeletions/Duplications in Pediatric Neurology," *Duzce Medical Journal*, 23(1), 97-109, 2021.
- [107]. Eroz, R., Dogan, M., Kocabay, K, "A Novel Mutation K447m (P.Lys447met, C.1340 A>T) Identified In Exon 4 Of The MEFV Gene," *Genetic Counselling*, 27(4), 525-528, 2016.
- [108]. Akaltun, A., Eroz, R., Dogan, M., Bolu, S., Onder, H. I., Onbas, O., Kocabay, K, "Basal Cell Nevus (Gorlin) Syndrome With A Novel Heterozygous Deletion Frameshift Mutation (C.959delc, P.Val322 Phe Fsx2) In The Ptch1 Gene Associated With Epiretinal Membrane, Odontogenic Keratocysts And Without Skin Lesions And Falx Cerebri Calcification," *Genetic Counselling*, 27(2), 259-262, 2016.
- [109]. Soysal, Z., Okur, M., Eroz, R., Gun, E., Kocabay, K., Besir, F. H, "Megalencephalic Leukoencephalopathy With Subcortical Cysts With Homozygous Mutation (C.448delc, P.Leu150 Ser Fsx11) On Exon 6 Of Mlc1 Gene," *Genetic Counseling*, 26(11), 229-232, 2015.
- [110]. Okur, M., Eroz, R., Mundlos, S., Senses, D. A., Ulgen, E., Ismailler, Z. B., Ozcelik, D, "EEC syndrome with a de novo mutation (c.953g>a) on exon 7 of p63 gene: a case report," *Genetic Counseling*, 23(4):483, 483-485, 2012.
- [111]. Eroz, R., Damar, H., Kılıcaslan, O, "Thrombosis risk of Alport syndrome patients: evaluation of cardiological, clinical, biochemical, genetic and possible causes of inherited thrombophilia and identification of a novel COL4A3 variant," *Blood Coagulation and Fibrinolysis*, 31(4), 264-269, 2020.
- [112]. Bolu, S., Eroz, R., Dogan, M., Arslanoglu, I., Dundar, I, "Genotype-phenotype Characteristics of Turkish Children with Glucokinase Mutations Associated Maturity-onset Diabetes in the Young," *Indian Pediatrics*, 57(11), 1037-1039, 2020.
- [113]. Karagun, E., Eroz, R., Gamsızkan, M., Baysak, S., Eyup, Y., Ozcan, Y, "Xeroderma pigmentosum E; The new mutation identified in the DDB2 gene," *International Journal of Dermatology*, 59(8), 989-996, 2020.

- [114]. Bolu, S., Eroz, R., Tekin, M., Dogan, M, “Atypical Presentation in Patients with 17 α -Hydroxylase Deficiency Caused by Deletion in the CYP17A1 Gene: Short Stature,” *The Turkish Journal of Pediatrics*, 62, 851-857, 2020.
- [115]. Dogan, M., Tearali, K., Eroz, R., Demirci, H., Kocabay, K, “Clinical and molecular findings in a Turkish family with an ultra-rare condition, ELP2-related neurodevelopmental disorder,” *Molecular Biology Reports*, 48(1), 701-708, 2021.
- [116]. Dogan, M., Eroz, R., Terali, K., Gezdirici, A., Bolu, S, “Clinical, radiological and computational studies on two novel GNPTG variants causing mucopolidosis III gamma phenotypes with varying severity,” *Molecular Biology Reports*, 48(2), 1465-1474, 2021.
- [117]. Gezdirici, A., Terali, K., Gulec, E. Y., Bornaun, H., Dogan, M., Eroz, R, “An integrated clinical and molecular study of a cohort of Turkish patients with Marfan syndrome harboring known and novel FBN1 variants, ‘’ *Journal of Human Genetics*, 66(1), 77-85, 2021.
- [118]. Dogan, M., Eroz, R., Ozturk, E, “Chorioretinal dystrophy, hypogonadotropic hypogonadism, and cerebellar ataxia: Boucher-Neuhauser syndrome due to a homozygous (c.3524C>G (p.Ser1175Cys)) variant in PNPLA6 gene,” *Ophthalmic Genetics*, 42(3), 276-282, 2021.
- [119]. Türay, S., Eroz, R, “White-Sutton syndrome with hot water epilepsy and coexistence of SHOX gene variations,” *Acta Neurologica Belgica*, 121(3), 749-755, 2021.
- [120]. Türay, S., Eröz, R., Başak, A. N, “A novel pathogenic variant in the 3' end of the AGTPBP1 gene gives rise to neurodegeneration without cerebellar atrophy: an expansion of the disease phenotype?,” *Neurogenetics*, 22(2), 127-132, 2021.
- [121]. Dogan, M., Eroz, R, “A Novel Variant in Paired Box 3 Gene Related to Waardenburg Syndrome Type I in an Afghan Family,” *Journal of the College of Physicians and Surgeons Pakistan*, 32(1), 1-4, 2022.
- [122]. Beştaş, A., Bolu, S., Unal, E., Aktar Karakaya, A., Eroz, R., Tekin, M., Haspolat, Y. K, “A rare cause of delayed puberty and primary amenorrhea: 17 α -hydroxylase enzyme deficiency,” *Endocrine*, 75, 927-933, 2022.
- [123]. Doğan, M., Eröz, R., Tecellioğlu, M., Gezdirici, A., Çevik, B., Barış, İ, “Clinical and Molecular Findings in a Turkish Family Who Had a (c.879-1G>A) Splicing Variant in PSEN1 Gene with a Rare Condition: The Variant Alzheimer's Disease with Spastic Paraparesis,” *Current Alzheimer Research*, 19(3), 223-235, 2022.
- [124]. Doğan, M., Eröz, R., Bolu, S., Yuce, H., Gezdirici, A., Arslanoglu, I., Terali, K, “Study of ten causal genes in Turkish patients with clinically suspected maturity-onset diabetes of the young (MODY) using a targeted next-generation sequencing panel,” *Molecular Biology Reports*, 49, 7483-7495, 2022.

- [125]. Bisgin, A., Sag, S. O., Dogan, M. E., Yildirim, M. S., Gumus, A. A., Akkus, N., et al, "Germline landscape of BRCA by 7-site collaborations as a BRCA consortium in Turkey," *Breast*, 65, 15-22, 2022.
- [126]. Yazıcı, M., Yektaş, Ç., Eröz, R., Kaplan Karakaya, E. S., Sarıgedik, E, "Investigation of the forkhead box protein P2 gene by the next-generation sequence analysis method in children diagnosed with specific learning disorder," *Psychiatric Genetics*, 33(1), 8-19, 2023.
- [127]. Kılıçaslan, O., Eröz, R, "Whole exome sequencing of ALMS1 gene identified a novel pathogenic homozygous mutation (c.3132_3133delAC/p.Gln1045ValfsTer2) in a Turkish family with Alstrom syndrome," *Hong Kong Journal of Paediatrics*, 28, 27-30, 2023.
- [128]. Eroz, R., Dogan, M., Yuce, H., Ozmerdivenli, R, "A Family From Turkey With 761_764dupCCGC p.Asn256Argfs70 MEFV Gene Mutation, Their Clinical Features and Review of The Literature," *Konuralp Medical Journal*, 8(3), 214-217, 2016.
- [129]. Bolu, S., Eroz, R., Dogan, M., Arslanoglu, I., Gun, E., Yuce, H, "A Novel p.Arg179Ser (c.537 G>T) Heterozygotes Mutation on Exon 3 of SRD5A2 Gene Accompany with Biotinidase Deficiency in Case with Ambiguous External Genitalia," *Konuralp Medical Journal*, 9(3), 278-282, 2017.
- [130]. Eroz, R., Dogan, M., Bolu, S., Yuce, H, "A Seven Years Old Girl with Klippel-Feil Syndrome, Bilateral Sprengel Deformity, Congenital Unilateral Renal Agenesis and A Heterozygous Mutation M680I(G>C) in The MEFV Gene," *Konuralp Medical Journal*. 9(2), 167-170, 2017.
- [131]. Bolu, S., Eroz, R., Dogan, M., Arslanoğlu, I., Uzun, H., & Timur, F, "A family with novel homozygous deletion mutation (c.1255delT; p.Phe419Serfs*12) in GCK gene which is a rare cause of permanent neonatal diabetes mellitus," *Turkish Archives of Pediatrics*, 55(4), 434-437, 2020.
- [132]. Bektas, M., Guray, C., Eroz, R., & Erdogan, S, "Combination of novel c.3484G>T/p.Glu162Ter mutation in ABCB11 and c.208G>A/p.Asp70Asn mutation in ATP8B1 is associated with severe symptoms in progressive family intrahepatic cholestasis," A case report. *Journal of Pediatric Genetics*, 9(4), 285-288, 2020.
- [133]. Damar, H. I., & Eroz, R, "Cardiac involvement in FMF patients with new and rare mutations," *Konuralp Tip Dergisi*, 11(2), 274-277, 2019.
- [134]. Damar, İ. H., Eroz, R., & Kılıçaslan, Ö, "Frequency of hereditary prothrombotic risk factors in patients with Down Syndrome," *Konuralp Medical Journal*, 13(1), 89-93.
- [135]. Dogan, M., Koksall, M., & Eröz, R, "Heterozygous c.1730G>C (p.Trp577Ser) variation in a case with familial hypercholesterolemia". *Acta facultatis medicae Naissensis*, 39(4), 496-501, 2022.

- [136]. Sultanoglu, T. E., Eröz, R., & Ataoglu, S, "Evaluation of HLA-B51 frequency and its relationship with clinical findings in patients with Behçet's disease: 4-year analysis in a single center," *Egyptian Rheumatology and Rehabilitation*, 50, 15, 2023.
- [137]. Eroz, R., Dogan, M., Yuce, H., Kocabay, K., & Yuksel, E, "A Turkish family with A89T (p. Ala89Thr, c.265G>A) mutation on the MEFV gene, their clinical findings and review of the literature," *F.Ü.Sağ.Bil.Tıp Derg.*, 30(2), 67-70, 2016.
- [138]. Bolu, S., Dogan, M., Eroz, R., Yuce, H., Mermerci, A., & Özmerdivenli, R, "Psödohipoaldosteronizm tip 1 tanılı bir olgu ve moleküler genetik etiolojinin araştırılması [A case diagnosed with pseudohypoaldosteronism type 1 and investigation of molecular genetic etiology]," *Duzce Medical Journal*, 19(3), 86-88 2017.
- [139]. Damar, H., & Eroz, R., "Evaluation of cases with myotonia congenita for cardiovascular risk," *Medeniyet Med J (MEDJ)*, 34, 374-379, 2019.
- [140]. Damar, H., & Eroz, R, "The association of hereditary prothrombotic risk factors with ST-elevation myocardial infarction," *Medeni Med J.*, 35, 295-303, 2020.
- [141]. Kurt, F., Dogan, M., & Eroz, R, "Charcote-Marie-Tooth disease type 4c caused from a pathogenic homozygous c.1897delG (p.Ala633Profs*12) variation in the SH3TC2 gene," *Hong Kong Journal of Pediatric Research*, 4(2), 35-37.
- [142]. Kurt, F., Dogan, M., & Eroz, R, "A novel variant of tuberous sclerosis: c.2458A>T p.(Lys820*) in the TSC1 gene 19th exon," *Hong Kong Journal of Pediatric Research*, 4(3), 48-50, 2021.
- [143]. Gezdirici, A., Unal, I., Eroz, R., Gulec, E. Y., Ayaz, I. O., & Cicek, G, "Comparative analysis of spermogram, hormonal profile and genetic analysis results in patients applying with male infertility: A single center experience," *Value in Health Sciences*, 12(1), 15-21, 2022.
- [144]. Kurt, F., Eroz, R., & Dogan, M, "The diagnosis to be kept in mind in resistant epilepsy; tuberous sclerosis," *Northwestern Medical Journal*, 2(1), 59-64, 2022.
- [145]. Dogan, M., Gezdirici, A., Yavas, C., & Eroz, R, "Tekrarlayan gebelik kayıpları nedeniyle çalışılan 306 çiftin kromozom analizi ve trombofili parametrelerinin değerlendirilmesi: Tek merkez deneyimi [Evaluation of both chromosome analysis and thrombophilia parameters of 306 couples studying for recurrent pregnancy loss: A single center experience]," *Value in Health Sciences*, 12(2), 280-285, 2022.
- [146]. Barış, S., Yavaş, C., Balasar, Ö., Gördü, Z., Doğan, M., & Eröz, R, "Batı Ege bölgesinde α -talasemi genotipleri ve α -talasemi genotip frekansı [α -Thalassemia genotypes and α -thalassemia genotype frequency in the Aegean region], " *Sağlık Bilimlerinde Değer*, 13(2), 257-262 2023.

- [147]. Saiki, R. K., Gelfand, D. H., Stoffel, S., Scharf, S. J., & et al, "Primer directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase," *Science*, 239(4839), 487-491, 1988.
- [148]. Syvanen, A. C., Bengtstrom, M., Tenhunen, J., & Soderlund, H, "Quantification of polymerase chain reaction products by affinity-based hybrid collection". *Nucleic acids research*, 16(23), 11327-11338, 1988.
- [149]. Dennis Lo, Y. M, "Introduction to the polymerase chain reaction". *Methods in molecular medicine*, 16, 3-10, 1998.
- [150]. Doğan, M., Eröz, R., Yüce, H., & Özmerdivenli, R, "The known about next-generation sequencing (NGS) (Review of the literature)". *Duzce Medical Journal*, 19(1), 27-30, 2017.
- [151]. Valentonyte, R., Hampe, J., Croucher, P. J., Müller-Quernheim, J., Schwinger, E., Schreiber, S., & Schürmann, M, "Study of C-C chemokine receptor 2 alleles in sarcoidosis, with emphasis on family-based analysis". *Am J Respir Crit Care Med*, 171(10), 1136-1141, 2005.
- [152]. Yoshimura, T., Robinson, E. A., Tanaka, S., Appella, E., Kuratsu, J., & Leonard, E. J, "Purification and amino acid analysis of two human glioma-derived monocyte chemoattractants". *J Exp Med*, 169, 1449-1459, 1989.
- [153]. Carr, M. W., Roth, S. J., Luther, E., Rose, S. S., & Springer, T. A. "Monocyte chemoattractant protein 1 acts as a T-lymphocyte chemoattractant". *Proc Natl Acad Sci USA*, 91, 3652-3656, 1994.
- [154]. Allavena, P., Bianchi, G., Zhou, D., van Damme, J., Jilek, P., Sozzani, S., & Mantovani, A, "Induction of natural killer cell migration by monocyte chemotactic protein-1, -2 and -3". *Eur J Immunol*, 24, 3233-3236, 1994.
- [155]. Loetscher, P., Seitz, M., Clark-Lewis, I., Baggiolini, M., & Moser, B, "Activation of NK cells by CC chemokines: chemotaxis, Ca²⁺ mobilization, and enzyme release". *J Immunol*, 156, 322-327, 1996.
- [156]. Spagnolo, P., Renzoni, E. A., Wells, A. U., Sato, H., Grutters, J. C., Sestini, P., & Abdallah, A, "C-C chemokine receptor 2 and sarcoidosis: association with Lofgren's syndrome". *Am J Respir Crit Care Med*, 168(10), 1162-1166, 2003.
- [157]. Petrek, M., Drábek, J., Kolek, V., Zlámál, J., & Welsh, K. I, "CC chemokine receptor gene polymorphisms in Czech patients with pulmonary sarcoidosis". *Am J Respir Crit Care Med*, 162(3 Pt 1), 1000-1003, 2000.
- [158]. Hizawa, N., Yamaguchi, E., Furuya, K., Jinushi, E., Ito, A., & Kawakami, Y, "The role of the C-C chemokine receptor 2 gene polymorphism V64I (CCR2-64I) in sarcoidosis in a Japanese population". *Am J Respir Crit Care Med*, 159(6), 2021-2023, 1999.
- [159]. Valentonyte, R., Hampe, J., Croucher, P. J., Müller-Quernheim, J., Schwinger, E., Schreiber, S., & Schürmann, M, "Study of C-C chemokine

receptor 2 alleles in sarcoidosis, with emphasis on family-based analysis''. *Am J Respir Crit Care Med*, 171(10), 1136-1141, 2005.



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Pınar Yıldız

Yabancı Dili : İngilizce

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Doktora	Göğüs Hastalıkları	Kırıkkale Üniversitesi	2013
Lisans	Tıp Fakültesi	Kocaeli Üniversitesi	2007
Lise		Ankara Lisesi	2000