

AYŞENUR KÖKOĞLU

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL-2022



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

HUZURSUZ BACAK SENDROMLU HASTALARDA
DOĞAL VE EDİNSEL BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ
ELEMENLARININ ROLÜ

AYŞENUR KÖKOĞLU

DANIŞMAN
PROF. DR. GÜNNUR DENİZ

İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI
TEZLİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

İSTANBUL-2022

İTHAF

Tezimi bana her zaman destek olan anneme babama ve kardeşime ithaf ediyorum.



TEŞEKKÜR

Tezimin planlanmasında ve deneysel çalışmalarım boyunca her konuda desteğini esirgemeyen, bilgi ve deneyimleriyle eğitimime katkıda bulunan çok değerli danışman hocam Prof. Dr. Günnur Deniz'e,

Eğitimime katkıda bulunan, yol gösteren ve deneysel çalışmalarımda yardımcı olan değerli hocalarım Prof. Dr. Esin Çetin ve Dr. Öğr. Üyesi Metin Yusuf Gelmez'e,

Yardımları ve bilgi birikimleri ile her zaman destek olan kıymetli doktor ve hocam olan Prof. Dr. Derya Karadeniz ve Doç. Dr. Gülçin Benbir Şener'e,

Tezimin deneysel çalışmalarına olan katkılarından dolayı Abdullah Yılmaz'a,

Yardımları için Cerrahpaşa Nörolojisi Anabilim Dalı uyku teknikeri Aysun Tunalı'ya,

Yüksek lisans eğitimim süresince bilimsel fikir ve düşünceleriyle bana yardım eden bölümümün saygıdeğer hocalarına ve her zaman yardımcı olan, tecrübelerini paylaşan değerli arkadaşlarıma; Prof. Dr. Ali Osman Gürol, Doç. Dr. Suzan Çınar, Doç. Dr. Umut Can Küçüksezer, Doç. Dr. Sema Bilgiç Gazioğlu, Dr. Nilgün Akdeniz, Msc. İlhan Tahralı, Msc. Fatma Betül Öktelik, Msc. Ayşe Engin'e

Hayatımın her aşamasında maddi ve manevi desteklerini benden esirgemeyen ve yanımda olan sevgili anneme, babama ve kardeşim Rumeysa'ya sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	ii
BEYAN.....	iii
İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ	ix
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	x
ÖZET	xii
ABSTRACT.....	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Bağışıklık Sistemi	3
2.1.1. Doğal Bağışıklık Sistemi Elemanları	5
2.2. Edinsel Bağışıklık Sistemi Elemanları.....	8
2.3. Sitokinler.....	11
2.4. Uyku Bozuklukları.....	13
2.4.1. Uyku ile ilişkili Solunum Bozuklukları: Obstrüktif Uyku Apne Sendromu (OUAS) ve Santral Uyku Apne Sendromu	14
2.4.1.1. Epidemiyolojisi	15
2.4.1.2. Risk Faktörleri.....	15
2.4.1.3. Mekanizma ve Patofizyolojisi.....	15
2.4.1.4. Obstrüktif Uyku Apne Sendromu Tanı ve Tedavisi	16
2.4.2. Huzursuz Bacaklar Sendromu ve Uykuda Periyodik Ekstremitte Hareketleri; ..	17
2.4.2.1. Epidemiyolojisi	17
2.4.2.2. Risk Faktörleri.....	18
2.4.2.3. Mekanizma ve Patofizyoloji	18
2.4.2.4. Huzursuz Bacaklar Sendromu Tanı ve Tedavisi	20
2.5. Uyku ve Bağışıklık Sistemi	21
2.5.1. Uyku ve Doğal Öldürücü Hücre Aktivitesi.....	24

2.5.2. Uyku ve Sitokinler	24
2.6. Huzursuz Bacaklar Sendromu, Obstrüktif Uyku Apne Sendromu ve Bağışıklık Sistemi.....	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1. Çalışma Grubu	27
3.2. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri	27
3.2.1. ICSD III, 2014 /Tanı Kriterleri	27
3.2.2. ICSD III, 2014 /Tanı Kriterleri; A+B Kriterleri veya C Bulunmalıdır	28
3.3. Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri.....	28
3.4. Kan Örneklerinin Alımı ve Laboratuvara Transferi	29
3.5. Periferik Kan Mononükleer Hücrelerin Eldesi	29
3.6. T, B, NK ve ILC Hücre Gruplarının Belirlenmesi.....	30
3.7. Hücre içi Sitokin ve Sitotoksik Aktivite Ölçümü	30
3.8. Plazma Sitokin Tayini.....	34
3.9. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz	35
4. BULGULAR.....	36
4.1. Hücre oranları	36
4.1.1. T, B, NK Hücre Oranları.....	36
4.1.2. Doğal Lenfoid Hücre Oranları	37
4.2. Hücre İçi Sitokin Oranları.....	39
4.3. CD8 ⁺ T ve NK Hücreleri Perforin ve Granzim B Düzeyleri	41
4.4. Plazma Sitokin Düzeyleri	42
5. TARTIŞMA	43
KAYNAKLAR	47
HAM VERİLER	53
FORMLAR	54
ETİK KURUL KARARI	55
PATENT HAKKI İZNİ	58
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	59
ÖZGEÇMİŞ	60

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 3.1: Hastaların klinik özellikleri (Demografik özellikleri).....	27
Tablo 3.2: Monoklonal antikor listesi.....	31
Tablo 3.3: Panel listesi.....	32
Tablo 3.4: Cihaz listesi	33
Tablo 3.5: Sarf malzeme listesi.....	33
Tablo 3.6: Boncuk temelli çözünür molekül düzeyi belirleme yöntemi; minimum tespit edilebilir konsantrasyonlar.....	34



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: NK hücre fonksiyonu	6
Şekil 2.2: ILC alt grupları	7
Şekil 2.3: T hücre aktivasyonu	9
Şekil 2.4: Sitotoksik T hücre efektör mekanizması	10
Şekil 2.5: Uykunun çevresel etkenler ile ilişkisi.....	23
Şekil 4.1: T, B, NK ve NKT Hücreleri kapılama stratejisi	36
Şekil 4.2: T, B, NK ve NKT hücreleri oranları.....	37
Şekil 4.3: ILC hücreleri ve alt grupları kapılama stratejisi	38
Şekil 4.4: ILC-1, ILC-2 ve ILC-3 % oranları	38
Şekil 4.5: B, CD4 ⁺ T ve NK hücre içi sitokin kapılama stratejisi.....	39
Şekil 4.6: Hücre içi IFN- γ , IL-6, IL-13 ve IL-10 sitokin grafiği (A: NK hücre kapısı, B: CD19 ⁺ B hücre kapısı, C: CD4 ⁺ T hücre kapısı).....	40
Şekil 4.7: NK ve CD8 ⁺ T hücre içi perforin ve granzim B oranları kapılama stratejisi .	41
Şekil 4.8: Hücre içi perforin ve granzim B içeriği (A: NK hücre kapısında, B: CD8 ⁺ T hücre kapısında).....	41
Şekil 4.9: Plazma sitokin düzeyleri.....	42

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

AHI:	Apne-Hipoapne indeksi
ASH:	Antijen sunucu hücre
BHR:	B hücre reseptörü
BOS:	Beyin omurilik sıvısı
CD:	Farklılaşma kümesi
CTLA-4:	Sitotoksik T lenfosit ilişkili protein-4
DAMP:	Hasar ilişkili moleküler örgü
DMP1:	Dentin matriks asidik fosfoprotein 1
EEG:	Elektroensefalografi
FcR:	İmmünoglobulin reseptörleri
GATA3:	GATA bağlayıcı protein 3
GWAS:	Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları
HBS:	Huzursuz bacaklar sendromu
HBS+OUAS:	HBS ile birlikte görülen OUAS
HIF1 α :	Hipoksi indüklenebilir faktör α
HLA-DR:	İnsan lökosit antijen-DR
ICSD-III:	Uluslararası uyku bozuklukları sınıflandırması III. Baskı
IFN:	İnterferon
Ig:	İmmünoglobulin
IL:	İnterlökin
ILC:	Doğal lenfoid hücre
LTi:	Lenfotoksin
MDC:	Minumun tespit edilebilir konsantrasyon
MHC:	Majör histokompatibilite kompleksi
MRI:	Manyetik rezonans görüntüleme
N/L:	Nötrofil/Lenfosit
NK:	Doğal öldürücü hücre
NREM:	Hızlı göz hareketi olmayan

OUA: Obstrüktif uyku apnesi
OUAS: Obstrüktif uyku apnesi sendromu
PAMP: Patojen ilişkili moleküler örgü
PSG: Polisomografi
PUHB: Periodik uzuv hareketi
REM: Hızlı göz hareketi
ROR α : RAR ile ilgili yetim reseptör alfa
sIL-6R: Soluble IL-6 reseptörü
SPHB: Sürekli hava yolu basıncı
Tbet: T-box transkripsiyon faktörü
Tc: Sitotoksik T hücresi
Tfh: T folüküler yardımcı
Th: Yardımcı T
THR: T hücre reseptörü
TNF: Tümör nekroze faktör
TSD: Total uyku yoksunluğu
WEH: Willis-Ekbom hastalığı

ÖZET

Kökoğlu A. Huzursuz Bacaklar Sendromlu Hastalarda Doğal ve Edinsel Bağışıklık Sistemi Elemanlarının Rolü. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İmmünoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi. İstanbul. 2022.

Huzursuz bacaklar sendromu (HBS) bir uyku bozukluğu hastalığıdır ve özellikle bacaklarda dinlenme halinde rahatsızlık hissi ve hareket ettirme dürtüsü ile ortaya çıkar. Demir/ferritin eksikliği, dopaminerjik mekanizmalardaki bozuklukların ve genetik faktörlerin hastalığın ortaya çıkmasında etkin rol aldığı gösterilmiştir. Ek olarak ince bağırsakta bakteri çoğalması, HIV enfeksiyonu gibi enfeksiyon hastalıklarının huzursuz bacaklar sendromu prevalansını arttırdığına dair raporlar bulunmaktadır. Obstruktif uyku apnesi sendromu (OUAS) en sık görülen uyku bozukluklarından biridir. OUAS hastaları ile yapılan çalışmalar, OUAS ile ilişkili enflamatuvar süreçlerin hastalığın patofizyolojisinde rol oynayabileceğini göstermiştir.

Bu çalışmada HBS ile bağışıklık sistemi elemanları arasındaki ilişkinin ortaya konması hedeflenmiştir. Ayrıca HBS’de edinsel bağışıklık sistemi ve/veya doğal bağışıklık sistemi elemanlarından hangilerinin rol aldığının gösterilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmamızda HBS ve Obstruktif Uyku apnesi ile birlikte giden HBS (HBS+OUAS) hastaları ve sağlıklı kontrol grubu dahil edilmiştir. T, B, NK, NKT, ILC hücre oranları; T, B, NK hücrelerinde hücre içi IFN- γ , IL-6, IL-10, IL-13 sitokinleri; CD8⁺ T ve NK hücre sitotoksik aktivitesi akan hücre cihazı kullanılarak analiz edilmiştir. Plazma örneklerinde IFN- γ , TNF- α , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-13 düzeyleri boncuk temelli çözünür molekül düzeyi belirleme yöntemi ile değerlendirilmiştir.

Sonuçlarımız sağlıklı kontrol grubuna göre, HBS ve HBS+OUAS hastalarında ILC-1 hücre alt grubunun ve IL13⁺CD4⁺ T hücre oranının arttığını, ILC-2 hücrelerinin ise azaldığını göstermektedir. NK sitotoksitesi açısından değerlendirildiğinde, HBS hasta perforin pozitif NK hücre oranı HBS+OUAS hasta ve sağlıklı kontrol grubuna göre düşük saptanmıştır. Plazma IFN- γ ve IL-13 düzeyleri ise OUAS ile giden HBS grubunda sağlıklı kontrole ve HBS grubuna göre yüksek bulunmuştur. Bulgularımız HBS hastalığında hem doğal hem de edinsel bağışıklık sistemi elemanlarının rol oynadığına dair veriler ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: obstruktif uyku apne sendromu, huzursuz bacaklar sendromu, doğal lenfoid hücreler, sitokin, sitotoksit

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi, proje no: 37726 ve CB Strateji ve Bütçe Başkanlığı (Kalkınma Bakanlığı), proje no: 36288 tarafından desteklenmiştir.

ABSTRACT

Kökoğlu, A. Role of innate and adaptive immune system in patients with restless leg syndrome. Institute of Graduate Studies in Health Sciences, Department of Immunology, Msc Thesis. İstanbul. 2022.

Restless legs syndrome (RLS) is a sleep disorder that occurs with uncomfortable sensation and an urge to move, especially in the legs (limbs) at rest. It has been shown that iron/ferritin deficiency, dysregulation of dopaminergic mechanisms and genetic factors play an active role in the disease. In addition, reports show that infectious diseases such as small intestinal bacterial overgrowth and HIV infection increase the prevalence of restless legs syndrome. Obstructive sleep apnea syndrome (OSAS) is one of the most common sleep disorders. Studies conducted with OSAS patients have shown that inflammatory processes associated with OSAS may play a role in the pathophysiology of the disease.

The objective of this study was to investigate the relationship between RLS and immune system elements. In addition, it was aimed to show which of the adaptive immune system and/or innate immune system elements play a role in RLS. Fourteen RLS patients, 15 RLS patients with OSAS (RLS+OSAS) and 10 healthy subjects were included.

In our study: T, B, NK, NKT and ILC cell ratio; intracellular IFN- γ , IL-6, IL-10, IL-13 cytokines in T, B, NK cells; CD8⁺ T and NK cell cytotoxic activity was analyzed by flow cytometry. IFN- γ , TNF- α , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-13 levels in plasma samples were evaluated with bead-based soluble molecule assay.

Our results showed that compared to the healthy controls the ratio of ILC-1 subset and IL-13⁺CD4⁺ T cells were increased in RLS and RLS+OSAS patients but the levels of ILC-2 cells were decreased. When the NK cytotoxic activity of RLS patients were evaluated, it was found that the NK perforin levels were lower than OSAS+RLS patients and healthy controls. Plasma IFN- γ and IL-13 levels were found elevated in the RLS group with OSAS compared to the healthy control and RLS group.

In conclusion, our study revealed that both innate and adaptive immune system elements play a role in RLS.

Key Words: obstructive sleep apnea syndrome, restless legs syndrome, innate lymphoid cells, cytokine, cytotoxicity

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University.project no: 37726 and Directorate of Presidential Strategy and Budget preject no 36288

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Uyku hastalıkları toplumda oldukça yaygındır ve çalışmalar uyku ile bağışıklık sisteminin biribiri ile etkileşimde olduğuna dair veriler sunmaktadır. Sık görülen uyku hastalıklarından biri olan Willis-Ekbom hastalığı olarak da isimlendirilen huzursuz bacaklar sendromu (HBS) bacaklarda çoğunlukla anormal hisler ve disestezi e eşlik ettiği hareket ettirme isteği ile karakterizedir. Bu hareket ettirme isteği, hisler ve disestezi özellikle dinlenme halinde ve geceleri ortaya çıkarak bireylerin uyku kalitesini önemli ölçüde etkilemektedir. Kadınlarda daha yaygın görülen HBS, idiopatik olabileceği gibi ikincil etmenler nedeniyle de ortaya çıkabilmektedir. Etiyolojisi multifaktöriyeldir; genetik, santral demir/ferritin eksikliği ve dopaminerjik fonksiyon bozuklukları öne sürülen ana mekanizmalar arasında yer almaktadır. Obstrüktif uyku apne sendromu (OUAS) toplumda yaygın görülen diğer bir uyku bozukluğu hastalığıdır. Uyku sırasında hava akışının aralıklı olarak kısmi (hipopne) veya tam olarak tıkanması (apne) sonucunda oluşmaktadır ve kronik aralıklı hipoksemi ve sempatik aktivasyon ile şekillenir.

Bağışıklık sistemi vücudumuzu patojenlere ve yabancı organizmalara karşı savunma görevini üstlenmiştir ve edinsel ve doğal bağışıklık sistemi olarak iki farklı yanıt oluşturabilir. Doğal bağışıklık sistemi yabancı organizmaya karşı ilk savunma hattı görevini üstlenir, hızlıdır ancak özgün değildir. Edinsel bağışıklık sistemi daha özgün ve güçlü bir yanıt oluşturmaya karşın daha uzun sürede ortaya çıkmaktadır.

OUAS hastaları ile yapılan çalışmalar OUAS ile ilişkili enflamatuvar süreçlerin hastalığın patofizyolojisinde rol oynayabileceğini göstermiştir. Huzursuz bacaklar sendromunun etiyolojisinde de immün sistem ile ilişkili değişiklikler tanımlanmış olup, bu durum her iki hastalığın da bağışıklık sistemi ile ilişkili olabileceğini ve bu nedenle her iki hastalığın sıklıkla komorbid olarak görülmesini açıklamaktadır. Enflamasyon ile birlikte HBS prevalansı arasında ilişki olduğuna dair veriler ortaya konmuştur. Çalışmamızda bu ilişkiyi incelemek amacıyla HBS hastalarında ve OUAS ile birlikte giden HBS hastalarında doğal öldürücü hücre (NK), T ve B lenfosit oranları, NK ve CD8⁺ T hücrelerinin sitotoksik kapasitesi ve NK, CD4⁺ T ve B hücrelerinin sitokin salınımları incelenmiştir. HBS hasta bulguları, sağlıklı kontroller ve OUAS ile birlikte

görülen HBS hastaları ile karşılaştırılarak, huzursuz bacaklar sendromu ve bağışıklık sistemi ilişkisinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bağışıklık Sistemi

Vücudumuzu yabancı mikroorganizmalar ve onların toksik ürünlerine karşı savunma görevi bağışıklık sistemimize aittir. Bağışıklık sistemimiz patojen organizmalara karşı ilk savunmayı oluşturan doğal immün sistem ve uzun süreli etkin korumayı sağlayan edinsel immün sistem olmak üzere birlikte çalışan iki ayrı sistemden oluşur [1]

Bağışıklık sistemimizin en önemli özelliği, vücudumuzun hiç bir kısmının bu sistemin gözetiminden kaçamıyor olmasıdır. Bağışıklık sistemi, etkin bir işleyiş için ihtiyaç duyulan çok sayıda farklı hücre, hücre içi ve hücre dışı molekülleri üretmek vücudun savunma sistemini oluşturur [2]. Bu hücreler, embriyonik dönemde fetal karaciğerde ve erken çocukluktan sonra ise kemik iliğinde bulunan pluripotent kök hücrelerden gelişir. Daha sonra bazıları dolaşıma katılarak tüm vücudu dolaşır [3].

Bu hücrelerin başlıcaları konakçı savunması sağlayan doğal öldürücü (NK) hücreler, doğal lenfoid hücreler (ILC), nötrofiller, bazofiller, eozinofiller, mast hücreleri, dendritik hücreler, monositler ve makrofajlar, T ve B lenfosit hücreleridir [2]. Ancak hücre zarlarında eksprese edilen proteinler temelinde bu popülasyonlar daha da alt bölümlere ayrılır. Bu hücre fenotipini belirleyen protein yapıları farklılaşma kümesi (cluster of differentiation - CD) olarak adlandırılır. Şu anda 350'den fazla CD proteini tanımlanmıştır [4]. Bu proteinler arasında hücrelerin birbirleriyle ve çevreyle etkileşime girdiği reseptörler bulunur. Reseptörler, diğer hücreler üzerindeki ligandları veya sitokinler gibi çözünür molekülleri bağlar. Hücreler, yüzeylerinde yüzlerce farklı tipte reseptör eksprese eder. Birçoğu, glikozun hücreye taşınması gibi temel işlevler de rol alır. Bağışıklık sistemi ile ilişkili reseptörler genellikle çevreyi tarayarak tehlike, enfeksiyon veya anormal hücre ölümü bulgularını tanır. Bir bağışıklık tepkisi sırasında hücreler, organizmanın hayatta kalması ve enfeksiyon veya kanseri ortadan kaldırma olasılığını en üst düzeye çıkaracak şekilde yanıt verir [2]. Hücreler yüzey reseptörleri aracılığı ile patojeni ve patojenle enfekte hücreyi tanıyarak yok edilmesini sağlarlar. Bu reseptörlerin bir kısmı mikroorganizma üzerinde bulunan ortak örgüleri (pattern recognition receptors - PAMP) ve hasarla ilişkili moleküler örgüleri (damage-associated molecular patterns - DAMP) tanıyan reseptörlerdir. DAMP'ler, tümör

hücreleri, ölü veya ölmekte olan hücreler veya hipoksi gibi sinyallere yanıt olarak hücrelerden salınan ürünler dahil olmak üzere konakçı hücrelerden türetilir. PAMP ve DAMP'ları tanıyan reseptörler, hücrelerin hem dışında hem de içinde bulunur [3] [1].

Bağışıklık sisteminin temeli, yabancı madde veya organizmayı konakçı hücrelerden farklı olarak işaretleyen patojen veya toksinin yapısal özelliklerini, antijen adı verilen molekülleri, tespit etmesine dayanır. Bu tür konak-patojen veya konak-toksin ayrımı, konağın kendi dokularına zarar vermeden tehdidi ortadan kaldırmasına olanak sağlar [4]. Hücreler reseptörler aracılığıyla, karmaşık bir antijenin antijenik epitop olarak adlandırılan küçük bir bölümünü tanır. Karmaşık antijenler, tek tek epitopların bir mozaiginden oluşur. Bağışıklık tepkilerini ortaya çıkaran antijenler, immünojenler olarak adlandırılır. Tüm antijenler doğal olarak immünojenik değildir. Küçük, immünojenik olmayan antijenlere hapten denir ve bir yanıt uyarmak için taşıyıcılar olarak adlandırılan daha büyük immünojenik moleküllere bağlanmaları gerekir [3].

Bağışıklık, reaksiyonun hızı ve özgüllüğüne göre iki kısma ayrılır: Doğuştan gelen doğal bağışıklık sistemi ve uyarılabilir edinsel bağışıklık sistemi. İki ayrı reaksiyon olsalarda pratikte aralarında çok fazla etkileşim vardır [5]. Doğuştan gelen (doğal) tepkiler, enfeksiyöz ajanla ne kadar çok karşılaşılırsa karşılaşılсын aynı ölçüde meydana gelir. Edinilmiş (uyarlanabilir) tepkiler ise belirli bir enfeksiyona tekrar maruz kalındığında öncekinden daha hızlı ve daha güçlü bir hal alır [3]. Doğuştan gelen bağışıklık, daha çok anında konakçı savunması sağlayan bağışıklık sistemi elemanlarının (nötrofiller, monositler, makrofajlar, kompleman sistemi molekülleri, sitokinler ve akut faz proteinleri) yanıtını kapsasa da fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik engelleri de içermektedir. Edinsel bağışıklık, yüksek hayvanların bağışıklık sisteminin ayırt edici özelliğidir. Bu yanıt, T lenfositleri ve B lenfositleri aracılığıyla antijene özgü reaksiyonlardan oluşur. Doğuştan gelen bağışıklık yanıtı hızlıdır. Fakat bazen özgün olmadığından dolayı normal dokularda hasara neden olabilir. Edinsel bağışıklık yanıtı ise kesin ve daha etkindir ancak süreç birkaç gün veya hafta sürebilir. Edinsel bağışıklık yanıtının hafızası vardır, antijene bir sonraki maruz kalmada daha kuvvetli ve hızlı bir tepki oluşturur, ancak bu tepki hemen oluşmaz [5].

Vücudumuz patojenlere karşı 3 aşamalı bir savunma geliştirmiştir: Bir enfeksiyon oluşturmak için patojenin önce enzimler ve mukus gibi doğrudan

antimikrobiyal olan veya mikropun tutunmasını engelleyen sayısız yüzey bariyerini aşması gerekir. Ne keratinize deri yüzeyi ne de mukusla kaplı vücut boşlukları çoğu organizma için ideal yaşam alanı olmadığından, mikropların ektodermi aşması gereklidir. Bu ilk engeli aşan herhangi bir organizma, daha sonraki iki savunma seviyesiyle, sırasıyla doğuştan gelen ve edinilmiş bağışıklık tepkileriyle karşılaşır [3].

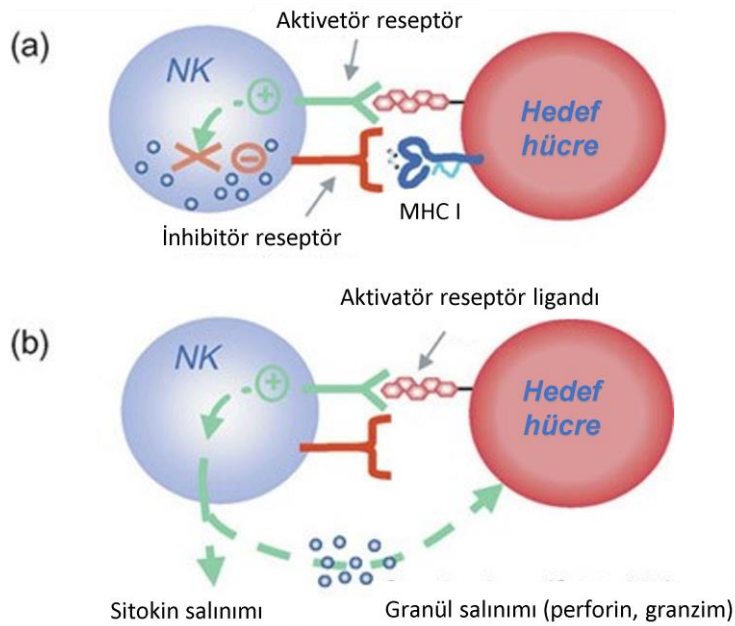
2.1.1. Doğal Bağışıklık Sistemi Elemanları

Doğuştan gelen bağışıklık sistemi (doğal bağışıklık sistemi), immünolojik hafızadan yoksun tüm bağışıklık tepkilerini kapsar. Bu nedenle, doğuştan gelen tepkiler antijenle ne sıklıkla karşılaşılırsa karşılaşılın, değişmeden kalır [3].

Bağışıklık sistemi hücrelerinin tamamının oluşumu, bir pluripotent hematopoietik kök hücrenin, ortak miyeloid progenitör hücreye veya ortak lenfoid progenitöre farklılaşmasıyla başlar. Ortak miyeloid progenitörler birkaç farklı granülosit, megakaryosit, trombosit ve eritrosit hücrelerine farklılaşır. Doğal bağışıklık işlevlerinde rol oynayan miyeloid soyunun hücreleri arasında monositler, makrofajlar, nötrofiller, eozinofiller, bazofiller ve mast hücreleri bulunur. Trombositler, hemostazdaki rollerine ek olarak immünolojik olarak önemli araçları da serbest bırakarak işlev görür [4].

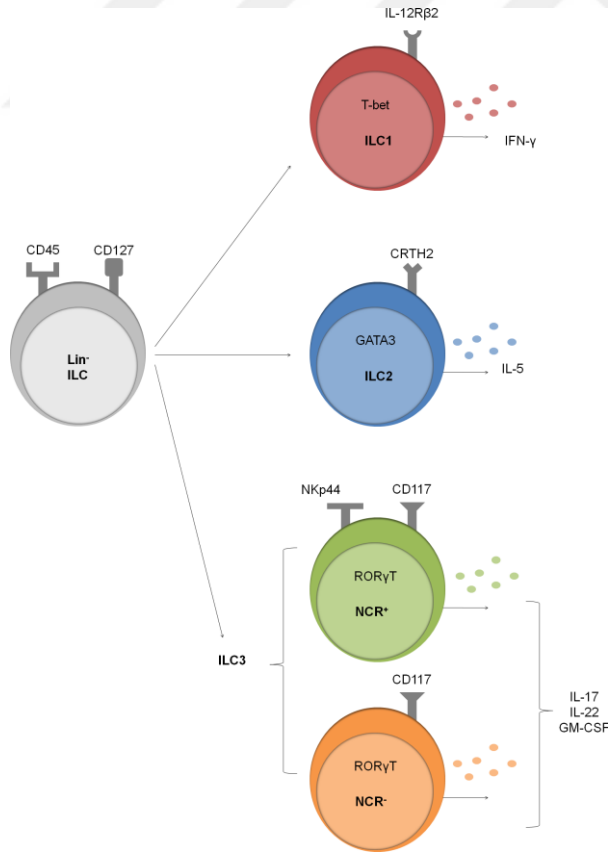
Doğal öldürücü (NK) hücreler, antiviral ve antikanser aktiviteleri ile karakterize edilen önemli efektör lenfosit grubudur. Bu hücrelerin başlıca işlevleri erken savunmayı sağlamaktır. Enfeksiyöz patojenleri, stresli ve hasarlı konakçı hücreleri tanır ve bu hücrelerin ortadan kaldırılmasına yardımcı olurlar [1]. Yüksek miktarlarda interferon-gamma (IFN- γ) üretirler ve sitotoksik mekanizmalar yoluyla hedef hücreleri doğrudan öldürebilirler. NK hücreleri ortak parametreleri tanıdıkları için doğuştan gelen bağışıklık sisteminin hücreleri olarak kabul edilmiştir. Uzun ömürlü NK hücrelerinin keşfi ve doğuştan gelen bağışıklık belleğinin gösterilmesiyle, NK hücrelerinin hem doğuştan gelen hem de edinsel bağışıklık yanıtını kapsayan rolleri olduğu bilinmektedir [6]. İnsan NK hücreleri CD56 ekspresyon seviyelerine göre iki alt gruba ayrılır; CD56^{parlak} NK hücreleri ve CD56^{soluk} NK hücreleri. CD56^{soluk} NK hücreleri sitotoksik aktivite ile hedef hücreleri ortadan kaldırırken, CD56^{parlak} NK hücreleri sitotoksik potansiyel kazanmadan önce sitotoksik mekanizmayı yukarı regüle etmede görevlidir [6].

Büyük doku uygunluk kompleksi olarak da adlandırılan majör histokompatibilite kompleksi (MHC), tüm omurgalılarda bulunan ve geniş bir gen ailesi tarafından ekprese edilen hücre yüzey molekülleridir. MHC, lökositler ile diğer bağışıklık hücreleri ve vücut hücreleri arasındaki etkileşimlerde rol alır. MHC molekülleri Sınıf I ve Sınıf II olmak üzere ikiye ayrılırlar. NK hücreleri Sınıf I MHC moleküllerini, sınıf I benzeri MHC molekülleri ve MHC ile ilgisi olmayan molekülleri bağlayan çok sayıda inhibitör ve aktive edici reseptöre sahiptir. Bu çeşitlilik NK hücrelerini hangi hedef hücrelere bağlanabilecekleri konusunda sınırlar [7]. NK hücreleri enfekte hücreleri iki mekanizma ile tanırlar. İlk olarak, taşıdıkları immünoglobulin reseptörleri (FcR) aracılığı ile antikora bağlı hücresel sitotoksositeye yol açan antikor kaplı hedefleri bağlarlar. İkincisi, yüzeylerinde MHC sınıf I için reseptörlere sahiptirler. Bir hücre ile etkileşim halindeyse ve bu reseptör bağlı değilse, doğal öldürücü hücre hedefi parçalamak üzere programlanmıştır. NK hücresi hedef hücreyi ortadan kaldırmak için bağlantıda olduğu hücrenin yüzeyine perforinler salgılar. Perforinler hücre zarında delikler oluşturur ve oluşan bu gözeneklerden granzimler hedef hücre içerisine girer. Granzimler, hedefte kaspaz aktivasyonunu sağlayarak apoptozun indüksiyonuna neden olur (Şekil 2.1-b). Normal konak hücreler MHC sınıf I pozitifdir, bu molekülün NK hücre üzerindeki reseptörüne bağlanması apoptoz yolunu inhibe eder (Şekil 2.1-a) [5, 8].



Şekil 2.1: NK hücre fonksiyonu

Doğal lenfoid hücreler - ILC, 2008 yılında tanımlanan ILC'ler ve grup-1 ILC (ILC-1), grup-2 ILC (ILC-2), grup-3 ILC (ILC-3) olmak üzere üç alt gruba ayrılmıştır (Şekil 2.2) [9]. ILC-1 alt grubu, klasik NK hücrelerini ve ILC-1 hücrelerini içermektedir. ILC-1 hücreleri gelişimleri ve fonksiyonları için T-box transkripsiyon faktörü (Tbet) ihtiyaç duyar ve IFN- γ üretimiyle karakterizedir. ILC-2 alt grubu, GATA bağlayıcı protein 3 (GATA3) ve RAR ile ilgili yetim reseptör alfa (ROR α) bağımlı olan ve ağırlıklı olarak interlökin-5 (IL-5) ve IL-13 olmak üzere tip 2 sitokinleri üreten alt gruptur. ILC-3 alt grubu doğal sitotoksikite reseptörü (NCR) taşımayan ILC-3 hücreleri, NCR taşıyan ILC-3 hücreleri ve LT α i hücreleri olmak üzere farklı alt gruplara ayrılır. ILC-3 hücreleri gelişimleri için ROR γ T transkripsiyon faktörüne ihtiyaç duyarlar ve IL-17 ve/veya IL-22 üretirler [10]. Büyük ölçüde dokuda yerleşik olan ILC hücreleri gerek transkripsiyon faktörleri gerekse salgıladıkları sitokinler açısından edinsel bağışıklık sisteminin T hücre alt grupları ile benzerlik gösterirler. ILC-1, ILC-2 ve ILC-3 alt grupları CD4⁺ yardımcı T (Th) 1, Th2 ve Th17 hücrelerini işlev açısından yansıtırken, NK hücreleri CD8⁺ sitotoksik T hücrelerinin işlevlerini yansıtır [1].



Şekil 2.2: ILC alt grupları

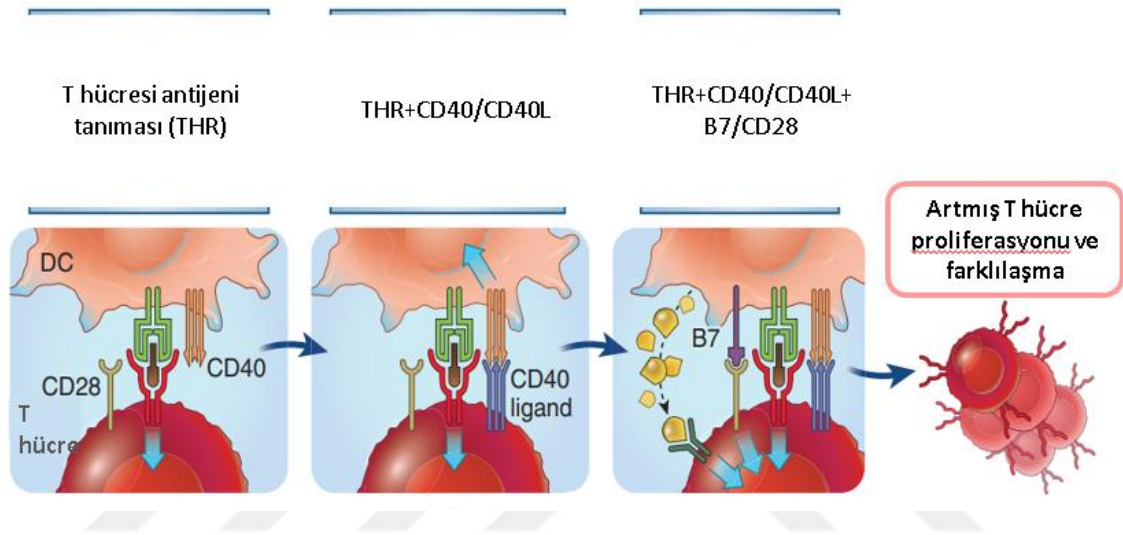
2.2. Edinsel Bağışıklık Sistemi Elemanları

Edinsel bağışıklık sisteminin en temel özelliği antijen spesifik özgün yanıt oluşturmaktır. T ve B lenfositleri edinsel bağışıklıkta görev alan iki hücre grubudur. Kemik iliği ve timusda ortak lenfoid progenitörden gelişen lenfositler dört ana popülasyonuna ayrılır: B hücreleri, T hücreleri, NK ve NKT hücreleri. Bu lenfosit alt grupları, yüzey fenotipi ile ayırt edilebilir[4]. BHR ekspresyonu (membran bağlantılı immünoglobulin-Ig) fenotipik olarak tanımlanan B hücreleri, yanıt oluşturdıkları antijen tipine ve ürettikleri antikor çeşitlerine göre alt sınıflara ayrılır. T lenfositleri transmembran heterodimerik protein olan T hücre reseptörünün (THR) hücre yüzey ekspresyonu ile tanımlanır. THR antijen sunucu hücreler (ASH) tarafından sunulan, işlenmiş antijeni tanır. NK hücreleri doğal bağışıklık sistemi elamanlarındandır ve büyük granüler lenfositler olarak tanımlanır. THR veya yüzey Ig eksikliği ile ayırt edilirler. Virüs bulaşmış veya tümör hücre hedeflerini, aktive/inhibe edici hücre yüzeyi reseptörlerinin karmaşık bir kombinasyonunu kullanarak tanırlar. NKT hücreleri, NK hücrelerinin ve T hücrelerinin her ikisine ait özellikleri de taşırlar [4].

T hücreleri: $\alpha\beta$ THR ekspresyonu ve sinyal iletiminde rol oynayan CD3 molekülünün ekspresyonu ile tanımlanır. CD8 ve CD4 proteinlerinin ekspresyonuna ve görevlerine göre iki temel alt sınıfa ayrılır. $CD3^+CD8^+$ T hücrelerinin (sitotoksik T hücreleri) ana işlevi enfekte olmuş hücreleri tanıyıp ortadan kaldırmak iken $CD3^+CD4^+$ T hücrelerinin (yardımcı T hücreleri) ana işlevi hücrel ve humoral bağışıklık yanıtlarının düzenlenmesidir [4]. Timusta gelişen T hücreleri gelişimin ilk aşamasında double negatiflerdir, ne CD4 ne de CD8 eksprese ederler. Daha sonra her iki molekülde eksprese ederek double pozitif olan bu hücreler timus korteksinde pozitif seleksiyona uğrar. Sınıf I MHC ile seçilen hücreler $CD4^+CD8^-$, sınıf II MHC ile seçilime uğrayan hücreler $CD4^-CD8^+$ hücreler olarak periferik geçişler [4].

Olgunlaşmasını tamamlamış naif T hücreleri, lenf düğümlerinin yüksek endotelial venüllerindeki adhezyon moleküllerine bağlanan, hücrenin lenf düğümlerine girmesini ve ASH ile geçici olarak bağlanmasını sağlayan reseptörleri taşırlar. Timusta gelişimlerini tamamlayan T hücreleri stabil değildirler, lenf ve kan dolaşımı aracılığıyla tüm vücudu 1-2 gün içerisinde dolaşırlar. Bu süreç içerisinde antijen taşıyan ASH ile karşılaşan T hücresi 2-3 gün içinde aktivasyonunu tamamlar. $CD4^+$ ve $CD8^+$ T hücrelerinin taşıdıkları THR farklılık gösterir. $CD4^+$ yardımcı T hücreleri MHC sınıf II

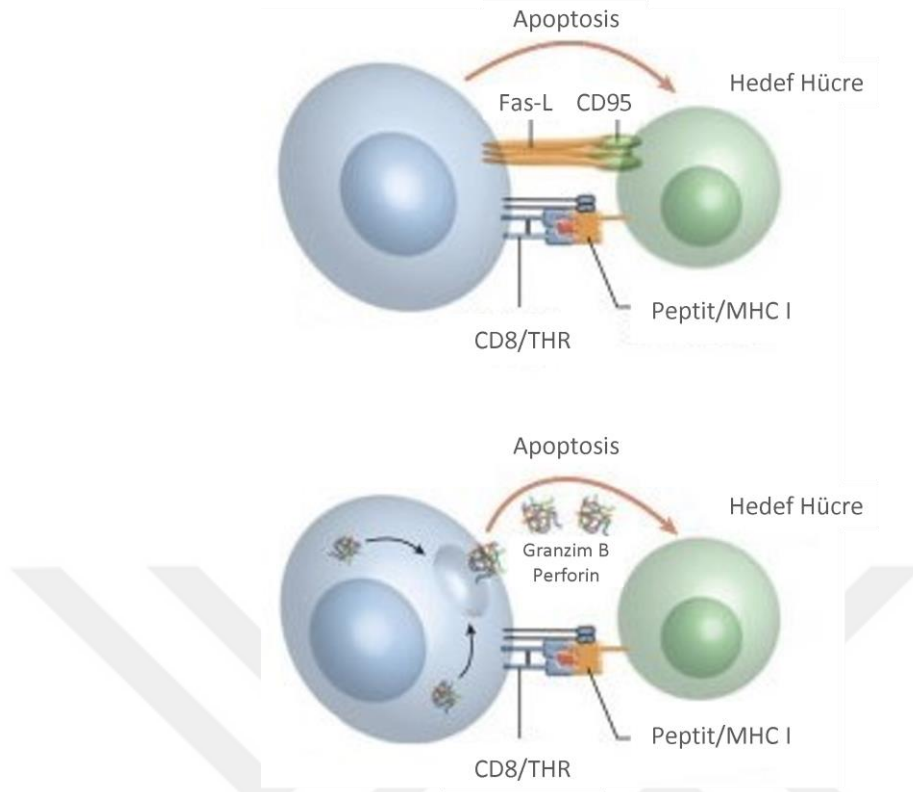
ile sunulan antijenleri tanırken, $CD8^+$ sitotoksik T hücreleri MHC sınıf I ile sunulan antijenleri tanımaktadır. Antijen ile karşılaşma sonrası aktivasyonun gerçekleşmesi, THR ve CD3 aracılığı ile iletilen sinyale ek olarak T hücre yüzeyinde bulunan koreseptör moleküllerine de bağlıdır. T hücre aktivasyonunda rol alan ve T hücre yüzeyinde bulunan temel koreseptörler sırasıyla CD28, CTLA-4 (sitotoksik T lenfosit ilişkil protein-4) ve CD40 ligand proteinlerine bağlanan CD80, CD86 ve CD40 molekülleridir (Şekil 2.3) [1].



Şekil 2.3: T hücre aktivasyonu

Efektör $CD4^+$ yardımcı T hücreleri, bağışıklık tepkisini düzenleyen, yabancı antijeni tanıyan ve patojeni ortadan kaldırmak için hücre aracılı bağışıklık yanıtının diğer kısımlarını aktive eden hücrelerdir. Ayrıca B hücrelerinin aktivasyonunda rol oynarlar. Efektör $CD8^+$ sitotoksik hücreler, anti-viral ve anti-tümör aktivitede yer alır. Her iki hücre grubunda hücre içi patojenlerin kontrolünde önemli bir rolü vardır.

Sitotoksik T hücreleri (Tc) temel olarak hedef hücrenin apoptozunu sağlayarak ortadan kaldırılmasını sağlar. Tc hedef hücreye bağlandıktan sonra perforin salgılayarak hedef hücre zarında porlar açılmasına neden olur ve stoplazmik granüllerinde bulunan granzim bu porlardan geçerek hedef hücre içirisinde kaspaz kaskadının aktivasyonunu sağlayarak hedef hücrenin apoptozuna neden olur. Tc ayrıca taşıdıkları FasLigand ile hedef hücre yüzeyindeki Fas molekülüne bağlanarak da hedef hücrenin apoptozunu tetikler (Şekil 2.4) [11].



Şekil 2.4: Sitotoksik T hücre efektör mekanizması

Th hücreleri, öncelikle B hücrelerinin antikor üretmesine yardımcı olarak, aynı zamanda da çeşitli patojenik mikroorganizmalara karşı Tc ve makrofaj işlevlerini düzenleyerek bağışıklık yanıtında merkezi bir rol oynar [12, 13]. Efektör Th hücreleri transkripsiyon faktörlerine ve sitokin profillerine göre fonksiyonel olarak farklı alt gruplara ayrılırlar. Th1 ve Th2 insan ve farelerde sitokin profillerine göre iyi tanımlanmış Th hücreleridir. Th1 hücreleri, T hücre proliferasyonunu indükleyen IL-2 üretir. IL-2, CD8⁺ T hücre bölünmesini ve sitotoksik aktiviteyi uyararak aktivasyonu hızlandırır. Th1 hücreleri tarafından üretilen diğer ana sitokin olan IFN- γ , mikobakteriler, protozoa ve mantarlar gibi hücre içi patojenler ile mücadele edilmesi için makrofajların aktivasyonunu sağlar ve NK hücrelerin sitotoksik aktivitesini indükler. Naif CD4⁺ (Th0) T hücrelerinin Th1 hücre alt grubuna farklılaşması için ana etmen IL-12 sitokindir, ancak IFN- γ sitokininin rolü de gösterilmiştir [14]. IFN- γ ayrıca diğer Th0 hücrelerini Th1 plastisitesi için uyarır ve Th2 farklılaşmasını pozitif geri besleme mekanizması (feedback) ile engeller [13]. Th2 yanıtı helmintler tarafından indüklenir ve onlara karşı koruma sağlar. Aynı zamanda pekçok alerjene karşı akut ve kronik enflamatuvar tepkilerin oluşmasında da rol alır [15]. Th0-Th2 dönüşümü birincil bağışıklık yanıtı sırasında erken IL-4 üretimi sayesinde gerçekleşir [16]. Bunlar dışında

çalışmalarla hücre dışı patojene karşı konak savunmasında rol alan Th17, gram negatif bakterilere karşı yanıtta rol alan Th22, otoimmüniteden astıma kadar değişen çeşitli hastalıklarda rol alan Th9 ve foliküllerde yer alan T foliküler yardımcı T (T_{fh}) hücreleri tanımlanmıştır [17-21].

B hücreleri: Humoral bağışıklıkta rol oynayan B lenfositleri Ig üretimleri ile tanımlanırlar. Ig molekülleri iki ağır zincir ve iki (κ veya λ) hafif zincirden oluşur. Ağır ve hafif zincirlerin amino terminal kısımları, değişken bölge olarak adlandırılır ve antikor molekülüne özgü olarak amino asit diziliminde değişiklik gösterir. Beş farklı Ig (IgA, IgG, IgE, IgM, IgD) molekülünün üretiminden sorumlu olan B lenfositleri CD3 ifade etmezler ve BHR ile bağımlı ve bağımsız şekilde hücre uyarılmasında rol alan CD19 ifadesi ile tanımlanırlar. Kök hücrelerin B soyuna farklılaşması, IL-7 üreten kemik iliği stromal hücrelerine bağlıdır. Olgunlaşmasını tamamlayan naif B hücreleri yüzey membranında IgM ve IgD eksprese eder [4]. Naif B hücreleri, IgM ve IgD aracılığıyla antijeni tanır ve efektör hale gelirler. Bu süreçte Th hücreleri ve onların salgıladığı sitokinler ve diğer uyarılar aracılığıyla da uyarıldıktan sonra klonal olarak çoğalmaya ve farklılaşmaya başlar. Farklılaşma T hücre aracılı olduğunda B hücreleri izotip dönüşümüne gider, plazma hücrelerine dönüşür ve antikor üretmeye başlar. T hücre etkileşimi olmadan aktifleşen hücreler marjinal bölge B hücrelerini (kan kaynaklı antijenlere karşı yanıt) ve B-1 (mukozal dokuda ve peritonda protein yapıda olmayan antijenlere karşı yanıt) hücreleri oluşturur. Bellek B hücreleri uzun süre yaşamına devam ederek tekrarlayan karşılaşma ikincil immün yanıtın daha güçlü ve hızlı oluşturulmasını sağlar [2, 4].

2.3. Sitokinler

Bağışıklık sisteminin hücreleri birbirleriyle ve diğer hücrelerle etkileşim halinde kalabilmek için iletişim ağına ihtiyaç duyarlar. Bu iletişim ağı bölgesel veya sistemler arası, özel veya genel etkili, geçici veya sürekli olabilir. Oldukça karmaşık olan bağışıklık yanıtında oldukça önemli olan bu iletişim ağı olağanüstü çeşitlilikte hücre zarına bağlı ve çözünür haberciler aracılığı ile gerçekleşir. Bu haberci gruplarının en iyi karakterize edilenleri arasında sitokinler bulunur [22]. Sitokinler çeşitli ve örtüşen hücre popülasyonlarını etkileyen enzimatik olmayan peptitlerdir. Sitokinlerin başlıcaları; intelökinler (IL), interferonlar (IFN- α , IFN- β , IFN- γ), koloni uyarıcı faktörler

(gronülosit uyarıcı faktör - G-CSF, makrofaj uyarıcı faktör - M-CSF ve gronülosit-makrofaj uyarıcı faktör - GM-CSF) ve tümör nekroze faktörleridir (TNF- α , TNF- β).

IL-2: Lenfositlerin proliferasyonu ve aktivasyonunda rol alır. CD4⁺ hücreleri esas kaynak olmakla birlikte CD8⁺ T hücreleri, timositler ve büyük gronüllü lenfositlerden salgılanır.

IL-13, IL-4: IL-4 ve IL-13 allerjik enflamasyonun düzenlenmesinde etkili sitokinlerdir. IL-4, CD4⁺ T hücrelerinin Th2 hücrelerine farklılaşmasını, B hücrelerinde IgG1 ve IgE izotip değişimini ve IL-4 ve IL-13 makrofajlarda alternatif aktivasyonu indükler. Mast hücreleri ve efektör T hücrelerinden salgılanırlar.

IL-6: Enfeksiyonlar ve doku yaralanmaları sonucunda hızlı ve geçici olarak T ve B hücreleri, fibroblastlar, endotelyal hücreler, kemik iliğindeki stromal hücreler, monositler, astrositler tarafından salgılanır [23]. IL-6, akut faz yanıtlarının arttırılması (C reaktif protein, fibronejen, haptoglobin, serum amilod A ve α 1-antikimotripsin üretilmesi) [24], hematopoezin ve immün yanıtın uyarılması yoluyla konak savunmasında rol almaktadır. B hücre antikor üretimi için temel faktörlerden biridir ve plazma hücre dönüşümünü artırır [25]. Ayrıca albümin, fibronektin, ve transferrin üretimini azaltır, serum demir ve çinko düzeylerinin düzenlenmesinde de rol oynamaktadır [23, 26].

IL-10: Proenflamatuvar yanıtın baskılanmasında ve aşırı immün yanıtların sınırlandırılmasında rol alan IL-10 çeşitli lökositler (dentritik hücreler, makrofajlar, mast hücreleri, NK hücreleri, eozinofiller, nötrofiller, T hücreleri ve B hücreleri) tarafından üretilir [27].

IFN- γ : IFN- γ veya tip II IFN enfeksiyonlara karşı ve tümör yanıtında rol alan kritik öneme sahip bir sitokindir. Hem doğal hemde edinsel bağışıklık sisteminin bir parçası olan IFN- γ , NK hücreleri, NKT hücreleri, CD4⁺ Th1 ve CD8⁺ efektör Tc hücreleri tarafından üretilir [28]. IFN- γ , makrofajların ve NK hücrelerinin önemli bir aktivatörüdür ve majör histo-uyumluluk kompleksi sınıf II molekül ekspresyonunun indükleyicisi olarak antijen sunumunun arttırılmasında görev almaktadır [29, 30].

TNF- α : Hem mebran bağlı hemde çözünür molekül olarak bulunan TNF- α esas olarak monosit ve makrofalar tarafından sentezlenen bir glikoproteindir. Pleotropik etki gösterebilen TNF- α düşük konsantrasyonlarda enfeksiyonlara karşı savunmada aktif rol

alırken, yüksek konsantrasyonlarda enflamasyona ve apoptozu indükleyerek doku hasarına neden olabilmektedir. TNF- α makrofajların enfeksiyon bölgesine hareket etmesinde aracılık eder. Bu fonksiyonu adezyon molekülleri ve kemokinlerin üretimini arttırarak gerçekleştirir [31, 32].

2.4. Uyku Bozuklukları

İnsan hayatı boyunca zamanının üçte birini uyuyarak geçirir. Yetersiz uyku, endokrin bozuklukları, yüksek kortikal fonksiyon, metabolik, ve nörolojik bozukluklar dahil çoğu vücut sisteminde çeşitli işlevsel bozukluklar ile ilişkilendirilmiştir. Uyku bozuklukları, yetersiz uyku, aşırı miktarda algılanan uyku ve uyku esnasında anormal hareketler şikayeti olarak kendini gösterebilir [33]. Uykusuzluk, sirkadiyen ritimuyku-uyanıklık bozuklukları, uyku ilişkili solunum bozuklukları, hipersomnolansın santral bozuklukları, parasomniler ve huzursuz bacaklar sendromu (HBS)/periyodik exremite (uzuv) hareket bozukluğunu (PEHB/PUHB) içeren uyku ile ilişkili hareket bozuklukları temel uyku bozukluklarıdır.

İnsomni; uykusuzluk, birbirini izleyen üç ay sürecinde haftada en az üç gece uykuyu başlatma, uykuyu sürdürme ve / veya sabah erken uyanma gibi zorlukların öznel deneyimi olarak tanımlınır. Yetişkinlerin yaklaşık olarak üçte biri hayatlarının bir noktasında geçici uykusuzluk yaşarlar. Vakaların yaklaşık %40'ında bu durum kronik bir duruma dönüşebilir. Farklı uykusuzluk alt tipi tanımlanmıştır (örneğin, idiyopatik, psikofizyolojik ve paradoksal), tanı ve tedavi genel olarak benzerdir [33].

Sirkadiyen Ritim Uyku-Uyanıklık Bozuklukları; uyku ve uyanıklık zamanlaması ve süresi, homeostatik faktörler ve endojen sirkadiyen sistem tarafından dengede tutulur. Normal bireylerde sirkadiyen ritmin uyku fazı, melatonin üretimi başladıktan 2 saat sonra gerçekleşir. Bireyin sirkadiyen ritmi, toplum tarafından belirlenen programlanmış uyku zamanından daha geç veya daha erken ortaya çıkabilir, bu durum gecikmiş veya ileri düzeyde uyku-uyanıklık evresi bozukluğuna neden olur [33].

Hipersomnolansın santral bozuklukları: Narkolepsi ve İdiyopatik Hipersomni; aşırı uyuma hastalığı olarak da bilinen hipersomni kişinin yaşına göre yeterli miktarda uyku alması durumunda bile yorgun ve halsiz hissetmesi ve gün içerisinde uyku atakları geçirmesine neden olan nörolojik bir hastalıktır. Hipersomnolansın santral bozuklukları tip 1 ve tip 2 narkolepsi, idiyopatik hipersomni (uzun uyku süresi olan veya uzun uyku

süresi olmayan) ve tekrarlayan hipersomni (Kleine-Levin sendromu) olarak farklı alt gruplara ayrılır [33].

Parasomniler: Hızlı Olmayan Göz Hareketi (NREM) ile ilişkili Parasomniler ve Hızlı Göz Hareketi (REM) Uykusu Davranış Bozukluğu; Parasomniler, uykuya dalma sırasında, uyku sırasında ve uykudan uyanırken ortaya çıkabilen fiziksel olaylardır. Çizgili kasların ve otonom sinir sisteminin etkilenmesi sonucu merkezi sinir sisteminin aktivasyonuylakendini gösterir. Görülen davranış tipine veya oluştukları uyku evresine göre gruplandırılabilir. En yaygın NREM ile ilişkili parasomniler arasında somnambulizm, konfüzyonel uyanmalar ve gece terörü bulunur [33]. REM ile ilişkili parasomniler arasında özellikle REM uykusu davranış bozukluğu, kapsamlı olarak incelenmiştir. REM uykusu davranış bozukluğu, REM uykusu sırasında görülen rüyalar ile ilişkili anormal davranışlara neden olmaktadır. Hastaya tıbbi müdahale almaya iten davranış türü genellikle çılgılık atma, yumruklama, tekmeleme veya diğer bu tür hareketlerdir, ancak şiddet içermeyen verbal veya motor hareketler de görülebilir [33].

2.4.1. Uyku ile ilişkili Solunum Bozuklukları: Obstrüktif Uyku Apne Sendromu (OUAS) ve Santral Uyku Apne Sendromu

Uyku apnesi, uykuda solunumda duraklamalar ile kendini gösteren bir uyku bozukluğudur. Apne, yetişkinlerde hava akışının 10 ve daha uzun saniye süre ile kesilmesi olarak tanımlanır. Genellikle üst hava yolunun tıkanması nedeniyle meydana gelir. Hipopne, genellikle oksijen satürasyonunda %3'lük bir düşüşle ilişkili olarak 10 saniye boyunca hava akışında en az %30 azalma olarak tanımlanır. Üç ana apne türü vardır: obstrüktif apne, santral apne ve mikst apne.

Hava akışının kesilmesine rağmen devam eden solunum çabası varsa, apne obstrüktif olarak kabul edilir. Eş zamanlı solunum çabası yoksa apnenin santral olduğu kabul edilir [34]. Santral apne esnasında hava akımının kesilmesi, beyin solunum merkezlerinden solunumu kontrol eden kaslara bağlı olarak, ya da merkezi solunum kası olan diyafram kası bozuklukları ile ilişkili olarak nefes alma refleksi eksikliği olduğunda ortaya çıkar [33]. Obstrüktif uyku apne sendromu, hasta uyurken saatte en az 5 sıklığında tekrarlayan obstrüktif apne, hipopne veya her iki olgunun varlığı ile tanımlanır. OUAS yaygın olarak 3 şiddet düzeyine ayrılır: hafif (apne-hipopne indeksi (AHI) = ≥ 5 ancak saatte <15 olay); orta (AHI = saatte 15-30 olay); ve şiddetli (AHI = saatte >30 olay) [35].

2.4.1.1. Epidemiyolojisi

Uyku ile ilişkili solunum bozukluğunun göstergesi olarak sadece 5 veya daha fazla sıklıkta tekrarlayan AHI ölçütü olarak alındığında OUAS sıklığı kadınlarda %9, erkeklerde %24'tür [34, 36]. Altmış beş yaş ve üzeri toplumda insidans %62'lere kadar çıkmaktadır [34]. OUAS uzun vadede hipertansiyon, kardiyovasküler hastalık, inme, yüksek mortaliteyi ile ilişkilidir. Tüm bu sorunlar bu hastalığı önemli bir toplumsal sorun haline getirmektedir [34].

2.4.1.2. Risk Faktörleri

OUAS riski değiştirilebilir ve değiştirilemeyen faktörlerden etkilenir. Erkek cinsiyeti, ırk ve yaş OUAS için değiştirilemeyen risk faktörleridir. Ailede OUAS öyküsü bulunması (genetik yatkınlık), dar hava yollarına neden olan kraniyal yüz yapısı OUAS riskinin artmasına neden olur. Değiştirilebilir risk faktörleri arasında obezite başta olmak üzere, hava yolunun daralması ve kas gevşemesine neden olan teröpatikler (opiatlar, benzodiazepinler), endokrin bozuklukları, dil içinde yağ doku birikimi, sigara ve alkol kullanımı, uyku pozisyonu ve burun tıkanıklığı sayılabilir [37, 38].

2.4.1.3. Mekanizma ve Patofizyolojisi

Üst hava yolu obstrüksiyonunun yeri tipik olarak, farinkste bulunur. Faringeal kaslar, fonasyon, yutma, ve inspirasyon sırasında faringeal açıklığın korunması dahil çeşitli işlevlere yardımcı olur. Sağlıklı insanlarda uyanıklıkta, faringeal açıklık, faringeal kasların merkezi sinir sistemi tarafından sürekli nöromusküler aktivasyonu ile korunur. Bu aktivasyon tipik olarak uyku sırasında azalır ve üst solunum yolunun açıklığını tehlikeye atar. Azalmış nöral aktivasyonun aşırı posterior faringeal doku, genişlemiş bir dil veya düşük damak gibi farinksin anatomik anormallikleri ile kombinasyonu, OUAS'lı hastalarda obstrüktif hipopne ve apne için zemin hazırlar [34].

Bilinç açık olduğu durumda üst solunum yolunun açık kalmasını sağlayan orofaringeal bölge kaslarının tonusu uyku sırasında düşer. Bunun sonucunda üst hava yolu daralır, hava akım hızı artar ve üst hava yolunda titreşimler meydana gelir. Bu titreşimler horlamaya neden olur. Uykuda REM evresine geçildiğinde genioglossus kası gevşer ve dil posteriora kayar, bu değişiklik üst hava yolunun tıkanmasına neden olur. Bu obstrüksiyon solunumun 10 saniyenin üzerinde durmasına ve apnelerin oluşmasına neden olur. Apne esnasında kanda oksijen saturasyonu düşer, uyku derinliği azalır. Uyku derinliğinin azalması kas tonuslarının artmasını sağlar ve solunum yolu

açılır. Uyanıklık reaksiyonları sonucu “arousal” denen yüzeysel uyku evresi veya uyanıklık durumuna ani geçişler gerçekleşir. Hasta arousallar ve sıklıkları nedeniyle derin uyku evresine geçemez ve yataktan yorgun kalkar, gündüz uyukluluk hali oluşur [39].

Uyku sırasında oluşan apnelerin fark edilmemesi ya da hastanın uzun süre tedavi almaması vücutta diğer patolojik olayları tetiklemektedir. Uzun süre tedavi almayan OUAS hastalarında hipertansiyon, glukoz intoleransı, dislipidemi, endotelial disfonksiyon ve ateroskleroz; sempatik aktivite artışı ve oksidatif strese bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Bu tablo metabolik sendrom olarak adlandırılan sonucu hastalarda inme ve miyokard enfarktüsü, kor pulmonale, böbrek yetmezliği gelişme riski oldukça artar [39].

2.4.1.4. Obstrüktif Uyku Apne Sendromu Tanı ve Tedavisi

Tanıda koyarken hasta ve yakınlarından anamnez alınması önem arz etmektedir. Uyku esnasında apneyi tarifleyen bulgular, gündüz aşırı uyku hali ve nöropsikiyatrik belirtiler gibi şikayetlerin olması hekim için uyarıcıdır.

OUAS tanısı için altın standart gecelik polisomografi (PSG) testinin yapılmasıdır. Elektroensefalografi, elektro-okülografi, çene elektromiyografisi, oksijen satürasyonu, oral ve nazal hava akımı, solunum çabası, elektrokardiyografi ve bacak hareketleri tüm gece kayıt altına alınır. Çalışma tipik olarak bir teknisyen tarafından denetlenir ve uyku laboratuvarında yürütülür. Tüm gece polisomografisi genellikle uyku özelliklerinin ve OUAS şiddetinin doğru bir resminin ortaya konmasını sağlar [34].

OUAS tedavi yaklaşımları çok yönlü olarak ele alınmalıdır. Tıkanıklığın kendisini tedavi etmenin yanı sıra, OUAS için risk faktörü olan etmenler de değiştirilmelidir. Hastaları kilo vermeye, uyku yoksunluğundan kaçınmaya ve tütün, alkol ve sakinleştiricilerden uzak durmaya teşvik etmek tedavide önemli bir etki içermektedir [34].

Sürekli pozitif hava yolu basıncı (continuous positive airway pressure, CPAP) tedavisi OUAS hastalarında en sık kullanılan ve en etkili tedavi yöntemidir [34, 40]. CPAP, nazal veya yüz maskesi aracılığıyla pozitif basınç altında hava sağlayarak apne-hipopneleri tedavi eder, farinkste pnömatik bir atel oluşturarak faringeal hava yolunun çökmesini önler [34, 41]. Literatürde %65 - 90 arasında CPAP uyum oranları

bildirilmiştir. Bir hastada tedaviye başlamadan önce gündüzleri belirgin uyku hali varsa ve daha sonra CPAP tedavisi ile iyileşme görülüyorsa, uyum muhtemelen daha yüksektir [34]. Etkili bir tedavi için gece başına CPAP cihazı kullanım oranının 6-8 saat arasında olması gerektiği, ancak hastaların uyum raporlarının değişiklik gösterdiği bildirilmiştir [42].

Cerrahi müdahale farklı kraniyofasiyal anormallikleri olan OUAS hastalarında kullanılabilecek diğer bir tedavi yöntemidir. Cerrahi prosedür Faz I ve Faz II olarak iki aşamada gerçekleştirilir. Faz I'in kısa vadede yanıt oranı yaklaşık %60'dır. Hasta yanıt vermezse, maksillomandibular ilerletmeyi içeren Faz II cerrahi düşünülebilir. Faz I ve Faz II cerrahi başarı oranı %90'a kadar ulaşmaktadır. Hasta şiddetli OUAS ve oksijen desatürasyonu %70'in altında olan obez ise başarı oranı muhtemelen daha düşüktür [43]. Tüm tedavi yöntemleri başarısız olursa, özellikle şiddetli OUAS, önemli oksijen desatürasyonu ve/veya ilişkili kardiyak hastalığı olan morbid obez hastalarda trakeostomi son bir tedavi seçeneği olarak düşünülmektedir.

2.4.2. Huzursuz Bacaklar Sendromu ve Uykuda Periyodik Ekstremit Hareketleri;

Huzursuz bacaklar sendromu (HBS), bir diğer adıyla Willis-Ekbom hastalığı (HBS/WEH), çoğunlukla anormal duysal yakınmalar ile ilişkilendirilen hareket ettirme dürtüsü ile şekillenen bir uyku bozukluğudur. Dinlenme sırasında ortaya çıkan hareket ettirme dürtüsü, akşam ve/veya gece saatlerinde görülür veya şiddeti artar. Özellikle bacaklarda daha belirgin olarak ortaya çıkan bu semptomlar, stabil uykuya dalmayı ve/veya sürdürmeyi etkileyerek kişinin yaşam kalitesini belirgin bir şekilde bozar [44].

2.4.2.1. Epidemiyolojisi

HBS, uykuyla ilişkili en yaygın hareket bozukluklarından biridir. Yetişkin bireylerin yaklaşık %15'ini etkiler. HBS prevalansı çoğu Asya popülasyonunda %1 - 3 arasında değişmektedir. Avrupa ve Kuzey Amerika'da bu oran daha yüksektir ve popülasyon temelli çalışmaların çoğunda %5 - 13 arasında değişmektedir. HBS'nin kadınlarda görülme sıklığı erkeklerden %30 - 50 kadar daha fazladır. Görülme sıklığı yaş ile doğru orantılı olarak artmaktadır [45-47]. Hastalık altta yatan nedenlere göre idiyopatik veya ikincil olarak iki farklı sınıfa ayrılabilir. İdiyopatik formunda bilinen bir neden yoktur, ancak çoğu hastada aile öyküsü bulunması genetik faktörlerin etkili olabileceğini düşündürmektedir. İkincil HBS çoğunlukla daha geç başlangıçlı bir seyir

gösterir ve çeşitli nörolojik bozukluklar (örn., multipl skleroz, Parkinson hastalığı), demir eksikliği (düşük ferritin seviyesi) veya hamilelik ile ilişkilidir [33].

2.4.2.2. Risk Faktörleri

Yaşam tarzının HBS'yi önlemesi üzerine yapılan çeşitli çalışmalar fiziksel aktivitenin koruyucu etkileri olduğunu gösterse de obezite ve sigaranın HBS riskini arttırdığına dair yeterli kanıt sunulamamıştır. Genetik yatkınlık hastalığın görülmesinde önemli bir etkidir. Çalışmalar etnik köken, çalışma tasarımı ve örneklem büyüklüğünde farklılıklar gösterse de HBS hastalarının %20 - 60'ında pozitif bir aile öyküsü bulunmaktadır. İdiyopatik HBS'li bireylerin %60'ı kadarında ve monozigotik ikizlerin %80'ni kadarında pozitif bir aile öyküsü bulunabilir [46].

HBS için bireysel genetik risk varyantları, genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (genome-wide association studies, GWAS) 2007'de uygulanabilir hale gelene kadar belirsizdi. İlk yapılan çalışmalar birkaç ilişkili bölge belirlesede HBS ile doğrudan ilişkili monogenik bir gen belirlenememiştir. Ancak büyük ölçekli GWAS çalışmaları, belirli genetik risk varyantlarını ve fonksiyonel aday genleri tanımlamıştır [48-50]. Bu çalışmaların verileri 22 lokusta toplam 23 ortak genetik risk varyantını ortaya çıkarmıştır. Ayrıca, bu çalışmada, ortak varyantlar tarafından HBS'ye katkıda bulunan kalıtsallığın %19,6 olduğu tahmin ederek, bu varyantların HBS duyarlılığının ölçümündeki önemini ortaya koymuştur [48]. GWAS analizleri sonucunda ortaya çıkan bölgelerdeki genlerin belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalar sonucunda çok sayıda tek nükleotid polimorfizmi, ve en azından altı farklı gen ürünü HBS ile ilişkilendirilmiştir: BTBD9, Meis1, PTPRD, MAP2K5, LBXCOR1 ve TOX3 [44].

2.4.2.3. Mekanizma ve Patofizyoloji

HBS'nin etiyopatogenezinde, genetik arka planın, çevresel faktörlerin ve gen-çevre etkileşimlerinin insanları hastalığa yatkın hale getirdiği ve klinik fenotipin ortaya çıkmasına katkı sağladığı bilinmektedir. Etiyolojik açısından, patofizyolojide önemli bir rol oynamak için çeşitli mekanizmalar tanımlanmış ve önerilmiştir ve bunlardan bazıları terapötik eylem için hedefler olabilir.

Beyin demir eksikliği: HBS, demir eksikliği anemisi olan hastaların %30 - 40'ında gözlenmektedir. HBS hastalarının çoğunda sistemik demir eksikliği görülmezken, beyin demir eksikliği oldukça sık rastlanan bir olgudur. Ancak tüm HBS

hastalarında beyin demir eksikliği vardır demek mümkün değildir. Manyetik rezonans görüntüleme (magnetic resonance imaging, MRI) çalışmaları, HBS hastalarında eritrositlerde demirin azaldığını göstermiştir [51]. HBS'li hastalarda beyin demiri eksikliği, normal serum ferritin ve transferrin seviyeleri ile birlikte azalmış beyin omurilik sıvısı ferritin seviyeleri ve artan beyin omurilik sıvısı (BOS) transferrin seviyeleri ile de gösterilmiştir [46, 52]. Ayrıca, otopsi çalışmalarında, koroid pleksusta ve beyin mikrovaskülatüründe demir taşınması ve düzenlenmesinde rol oynayan proteinlerin ekspresyonunda değişiklikler gözlenmiştir. Bu değişikliklerle birlikte hücre içi demir ve ferritinde önemli bir azalma olmuş ve transferin reseptörü yukarı regüle olmuştur. Bu çalışma ile HBS hastalarında değişmiş beyin demir alımı ortaya konmuştur. Ayrıca beyin endotel hücrelerinde transferrin reseptörü, ferritin ve taşıyıcılar dentin matris asidik fosfoprotein 1 (DMP1) ve ferroportinin değişmesi, kan-beyin bariyerindeki endotel hücreleri aracılığı ile gerçekleşen transferrin ile beyne demir taşınmasının HBS hastalarında bozulduğunu desteklemektedir. Bu HBS hastalarında sistemik bir demir eksikliği olmadığını ve beyne özgü bir demir eksikliğin varlığını açıklamaktadır [44, 46, 53].

Dopamin düzenlenmesindeki bozukluklar: HBS patolojisinde dopamin mekanizması ile ilişkili olduğu görüşü dopamin agonistlerinin duyu ve motor semptomları üzerinde teropatik faydalarının gözlenmesiyle güçlenmiştir. Klinik gözlemlerin yanı sıra son çalışmalar presinaptik bir hiperdopaminerjik durumla uyumlu olan dopamin sentezinin ve salınımının arttığını göstermiştir [54]. Tirozin hidroksilaz dopamin sentezindeki sınırlayıcı enzimdir ve demir bu enzim için kofaktör olarak görev alır. Ayrıca, bazal gangliyonlarda sinaptik dopaminin geri dönüşümü ve sinyalizasyonu, beslenmede demir alımı eksikliği ile bozulmaktadır. Demir eksikliğin diyet modellerinde, azaltılmış sentezin aksine, değiştirilmiş presinaptik dopamin salma mekanizmalarının neden olduğu bazal gangliyonlarda hücre dışı dopamin fazlalığı gözlenmiştir [55].

Birkaç klinik ve biyolojik gözlem, diğer nörotransmitter sistemlerinin de HBS'nin patogenezinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Örneğin, opiyatların HBS tedavisinde başarılı sonuçlar elde etmesinin nedeni azalan opiyat işlevinin HBS patolojisinin bir parçası olduğunu düşündürmektedir [56]. Merkezi sinir sistemi opiyat sistemleri, dopaminerjik sistemler ile önemli etkileşimlere sahiptir. Ayrıca manyetik

rezonans spektroskopisi verileri HBS hastalarının tamamında glutamatta bir artış olduğunu göstermektedir [57]. Gabapentin ve pregabalin gibi alfa-2 delta ilaçları da HBS tedavisinde, kalsiyum kanallarını değiştirerek etki eder ve böylece glutamat gibi nörotransmitterlerin salınımını azaltır [58, 59]. HBS için en etkili tedavi ajanlarından biri olan Metadonun hem mu-reseptör agonisti hem de bir N-metil-D-aspartat reseptör antagonistidir, dolayısıyla hem opiat hem de glutamaterjik sistemleri etkiler [60]. Aktive edici hipotalamik peptiderjik nörotransmitterlerden biri olan hipokretinin de dopaminerjik sistemle etkileşime girdiği gösterilmiştir. Beyin omurilik sıvısında artan hipokretin seviyeleri, yüksek HBS insidansı ile bir çalışmada ilişkilendirilmiştir [61].

Bazı çalışmalar hipoksinin HBS patogeneğinde etkili olabileceğini göstermektedir. Bu bulgulara uygun olarak, az sayıda epidemiyolojik çalışma, yüksek rakımda yaşayan popülasyonlarda HBS prevalansının arttığını bildirmiştir [62-64]. HBS hastalarından alınan birkaç beyinde substantia nigra da hipoksi ile indüklenebilir faktör 1 α 'nın (HIF1 α) yukarı regülasyonu ile hipoksik yolun aktive edildiği gösterilmiştir [46].

Özetle, HBS'nin patofizyolojisinde çoklu nörotransmitterler, dopaminerjik ve dopaminerjik olmayan mekanizmalar arasında karmaşık bir etkileşim vardır.

2.4.2.4. Huzursuz Bacaklar Sendromu Tanı ve Tedavisi

HBS için güvenilir bir biyolojik tanısal belirteç bulunmadığından, klinik değerlendirme, özellikle hastanın tıbbi öyküsünün toplanması, hastalığın doğru teşhis edilmesinde, semptomatik ve idiyopatik formların ayırt edilmesinde ve tedaviye rehberlik edilmesinde temel adım olarak ortaya çıkmaktadır. HBS teşhisi, ayrıntılı bir tıbbi görüşme ile tespit edilen beş temel teşhis kriterinin hepsinin bulunması ile teşhis edilir [65].

1. Her zaman olmasa da genellikle bacaklarda rahatsız edici ve hoş olmayan hislerin eşlik ettiği veya bu hislerin neden olduğu hissedilen bacakları hareket ettirme dürtüsü ortaya çıkar.
2. Bacakları hareket ettirme dürtüsü ve buna eşlik eden hoş olmayan duyular, uzanma veya oturma gibi dinlenme veya hareketsizlik dönemlerinde başlar veya kötüleşir.

3. Bacakları hareket ettirme dürtüsü ve buna eşlik eden hoş olmayan duyular, en azından aktivite devam ettiği sürece, yürüme veya esneme gibi hareketlerle kısmen veya tamamen rahatlar.
4. Dinlenme veya hareketsizlik sırasında bacakları hareket ettirme dürtüsü ve buna eşlik eden hoş olmayan duyular yalnızca akşam veya gece ortaya çıkar veya gündüze göre daha kötüdür.
5. Daha önce bahsedilen özelliklerin ortaya çıkması, yalnızca başka bir tıbbi veya davranışsal duruma (örneğin kas ağrısı, venöz staz, bacak ödemi, artrit, bacak krampları, pozisyonel rahatsızlık, alışılmış ayak vurma) birincil semptomlar olarak açıklanmaz.

HBS teşhisinde hiçbir biyolojik test gerekli değildir ancak HBS'nin ikincil formlarını belirlemek ve altta yatan bozukluğu yönetmek için özellikle ilk klinik değerlendirmede bir hematolojik tarama önerilir.

Günümüzde HBS tamamen tedavi edilemez, bu nedenle tedaviler hastalık semptomlarını hafifletmeye odaklanır. Eğer tedavi zamanında ve yeterliyse çoğu zaman başarılı sonuçlar elde edilir. Şiddetli olmayan veya seyrek aralıklı HBS hastalarında tedavisi için farmakolojik olmayan yaklaşımlar yeterli olabilir. Düzenli fiziksel egzersiz (geleneksel egzersiz ve yoga), manyetik veya elektriksel stimülasyon teknikleri, akupunktur, yaşam tarzı müdahaleleri (pnömatik kompresyon, ışık tedavisi ve bilişsel-davranışçı terapi, özellikle kronik uykusuzluk ve depresif semptomları olanlarda), alevlendirici faktörlerden kaçınma (örn. demir eksikliği ve beyaz şarap gibi) ve uyku hijyeni gibi faktörlere dikkat edilmesi HBS semptomlarının önlenmesi için yeterli olabilir [46].

Daha ileri düzeydeki HBS vakalarında farmakolojik yaklaşımlar tedavi için tercih edilmektedir. Farmakolojik tedavi yaklaşımları genellikle demir ve dopamin mekanizmaları, veya diğer nörotransmitlerin dengelenmesine yöneliktir. Ancak antikonvülzanlar enakarbil ve nöropatik ağrı gibi semptomları tedavi etmeye yönelik yaklaşımlar da mevcuttur [44, 46, 66, 67].

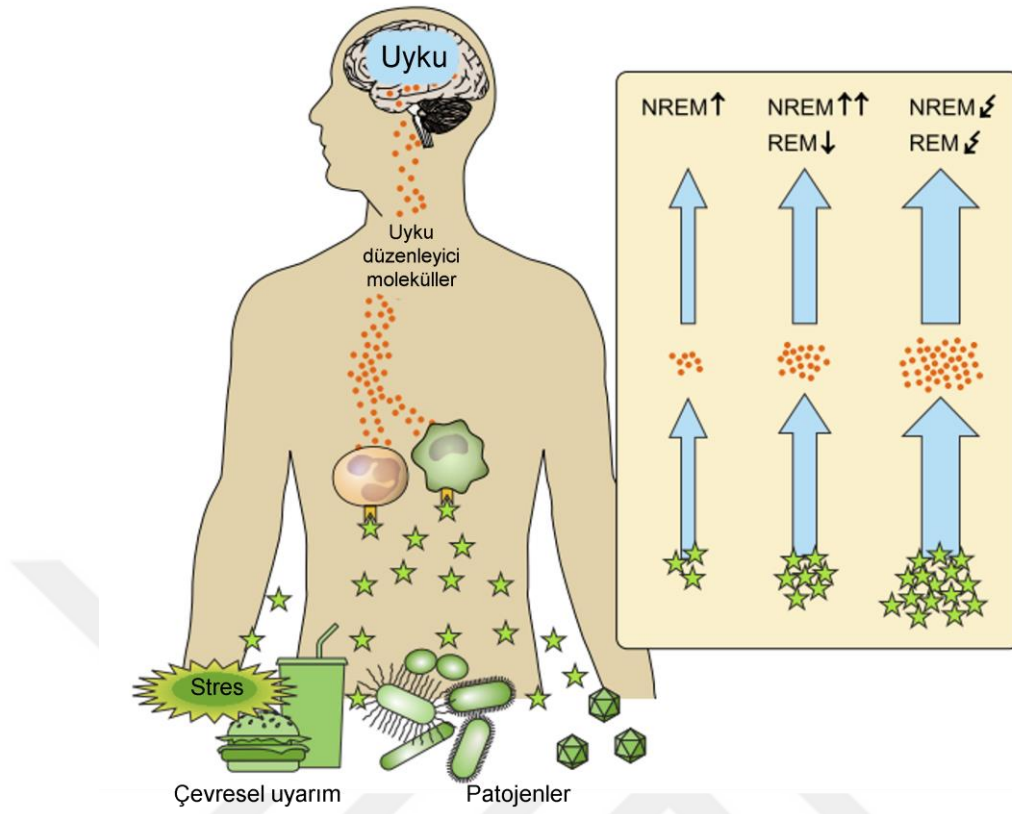
2.5. Uyku ve Bağışıklık Sistemi

Uyku ve bağışıklık sistemi arasındaki etkileşim ve ilişki iyi bilinen bir fenomendir. Bir enfeksiyona maruz kalındığında uyku isteği artar ve iyi bir gece uykusu

genellikle bulaşıcı bir hastalık için olumlu bir etken olarak tavsiye edilir. Bu çerçevede uzun süreli uyku kaybının vücudumuzun savunma sistemini zayıflattığı ve bu nedenle bizi soğuk algınlığına veya başka herhangi bir enfeksiyona daha yatkın hale getirdiği varsayılmaktadır [68]. Uyku, bağışıklık fonksiyonları üzerinde düzenleyici etki gösterir. Nöroimmün etkileşimler belirli anatomik ve fizyolojik koşullara dayanır: Nöronlar, glia hücreleri ve bağışıklık hücreleri hormonlar, nörotransmitterler ve modülatörler, sitokinler ve kemokinler gibi hücreler arası sinyalleri paylaşırlar ve bu sinyaller için ilgili reseptörleri ortak olarak ifade ederler [69]. Ortak payda da buluşan bu iki sistemin birinde oluşabilecek sorunların diğer sistemi de etkilemesi olasıdır (Şekil 2.5) [69].

Düzensiz uyku ve uyku kaybının konak savunma mekanizmalarını bozduğu ve viral ve bakteriyel patojenlere karşı duyarlılığı etkilediği düşünülmektedir [70, 71]. 2000’li yıllarda artan çalışmalarla uyku ve bağışıklık sisteminin çift yönlü olarak iletişim halinde olduğunu ortaya konmaktadır. Uykunun sitokin ekspresyonu üzerindeki etkilerine ek olarak, karmaşık sitokin ağı, uyku ve uyku derinliğini etkilemektedir [72, 73]. Enflamatuvar sitokinlerin sitokine, sitokin dozuna ve sirkadiyen faza bağlı olarak hem somnojenik hem de inhibitör etkileri vardır [74-76].

Çevresel uyaranlar (örneğin, gıda alımı, stres), ortak bakteriler ve bulaşıcı patojenler bağışıklık sistemi lökositleri tarafından tanınırlar. Bağışıklık sistem hücreleri aktivasyon sonucu, IL-1 ve TNF gibi, beyne ulaşan ve NREM uykuyu destekleyen, uyku düzenleyici maddelerin üretimi ile bir enflamatuvar yanıtı indükler. Daha yüksek dozlarda, örneğin bir enfeksiyon sırasında, bu uyku düzenleyici maddeler, REM uykusunu da baskılayabilir.



Şekil 2.5: Uykunun çevresel etkenler ile ilişkisi

Sağlıklı insanları içeren uyku araştırmalarında, kan lökosit alt kümelerinin sayısı en sık araştırılan parametreler arasındadır. İnsanlarda yapılan birkaç çalışma, toplam uyku yoksunluğu veya sadece birkaç saat veya birkaç güne kadar uyku kısıtlaması ile karşılaştırıldığında, uykunun toplam lökosit sayısını azaltıcı etki gösterdiği rapor edilmiştir. Azalmanın tespit edilemediği çalışmalar da mevcuttur [68]. Bu tür tutarsızlıklar, çoğu çalışmada hücre sayılarının gün boyunca yalnızca bir veya yalnızca birkaç zaman noktasında ve genellikle uyku sırasında değerlendirmemesinden kaynaklanıyor olabilir. Uykunun lökosit sayılarını arttırdığını gösteren çalışma bulunmadığından, uykunun kandaki lökosit sayısını geçici olarak da olsa azalttığı düşünülebilir. Benzer şekilde, toplam monosit ve lenfosit sayıları, lenfosit alt gruplarının (B hücreleri, $CD4^+$ ve $CD8^+$ T hücreleri, NK hücreleri) akut veya uzun süreli uyku azalması ile karşılaştırıldığında düzenli uyku ile azaldığı [77-79] veya değişmediği gösterilmiştir [68]. Bununla birlikte, özellikle düzenli bir gece uykusundan sonra akşamları ölçüldüğünde, lenfosit alt gruplarının ($CD4^+$ T hücreleri, $CD8^+$ T hücreleri ve NK hücreleri) sayısında artış olduğuna dair çalışmalar vardır [79-81].

2.5.1. Uyku ve Doğal Öldürücü Hücre Aktivitesi

Yapılan ilk çalışmalarda depresyon uyku düzensizliği için uygun bir model olarak kullanılmıştır. Depresif hastalarda NK hücre aktivitesinin uyku düzensizliğinin şiddeti ile negatif kolere olduğu gösterilmiş. Ayrıca uyku kalitesi ve bağışıklık arasındaki ilişkiler, uyku Elektroensefalografi (EEG) sonuçları ile değerlendirildiğinde de tutarlı sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin, depresif hastalarda, toplam uyku süresi, uyku etkinliği ve REM dışı uykunun süresi, litik aktivite ile pozitif olarak ilişkili bulunmuştur. [82]. Düşük miktarda EEG uykusuna ve uyku devamlılığına sahip olan depresif bireyler, düşük NK aktivitesi göstermiştir. Uyku ve NK aktivitesi arasındaki benzer ilişkiler, depresif olmayan gruplarda da bulunmuştur ve bu, düzensiz uykunun bir duygudurum bozukluğundan bağımsız olarak bağışıklık sistemini etkilediği görüşünü desteklemektedir. Yaşam boyu veya mevcut bir majör psikiyatrik bozukluk öyküsü olmayan kontrollerde bile, toplam uyku süresi, uyku etkinliği ve REM dışı uyku süresi, NK aktivitesi ile pozitif olarak ilişkili olarak gözlenmiştir [76]. Uykunun fonksiyonel parametreler, özellikle NK hücre aktivitesi ve lenfosit proliferasyonu üzerindeki etkisi de araştırılmıştır. Tam uyku yoksunluğu veya kısıtlamasından sonraki gece ve sabah, sağlıklı insanlarda NK hücre aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir [77, 83, 84]. Dinges ve arkadaşları ise, uzun süreli uyku yoksunluğunun insanlarda lökositozu ve NK hücre fonksiyonunun gelişimini indüklediğini rapor etmişlerdir [80]. Matsumoto ve arkadaşlarının bulguları benzer şekilde bir gecelik total uyku yoksunluğunun (TSD), NK hücre aktivitesinde akut bir artışa neden olduğunu ve bu artışın sirkadiyen ritmin etkilerinden veya TSD sırasında yapılan fiziksel egzersiz miktarından etkilenmediğini göstermektedir [85].

2.5.2. Uyku ve Sitokinler

Hayvanlarda, IL-1, TNF, IFN- γ ve IL-10 sitokinlerinin uykunun fizyolojik düzenlenmesinde yer aldığı gösterilmiştir [74, 76, 86]. IL-1 ve TNF- α gibi proenflamatuvar sitokinler delta uykusunu artırırken, IL-10 hayvanlarda yavaş dalga uykusunu inhibe etmektedir. Bununla birlikte, insanlarda, IL-6'nın akut periferik uygulaması, dolaşımdaki IL-6 seviyeleri yükselmesiyle gecenin ilk yarısında delta uykusunu azaltmıştır [87]. Vgontzas, dolaşımda IL-6 seviyesinin gündüz yükselmesinin, uyku bozukluğu olan hastalarda uykulu olma ve yorgunluk şiddeti ile ilişkili olduğunu ve uyku yoksunluğunun, gündüz aşırı IL-6 salgılanmasına yol açtığını bulmuştur.

Ayrıca plazma IL-6 seviyeleri yavaş dalga uykusu miktarları ile negatif korelasyon göstermektedir [88, 89]. Soluble IL-6 reseptörleri (sIL-6R) incelendiğinde ise sIL-6R plazma seviyelerinin arttığı gösterilmiştir [90].

IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-13, IL-15 ve IL-18'in de bazı uyku düzenleyici özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir. Anti-enflamatuvar sitokinler IL-4, IL-10 ve IL-13'ün tavşanlarda [91-93] NREM uyku miktarını azalttığı, pro-enflamatuvar etki gösteren sitokinlerin (IFN- γ , IL-2, IL-6 IL-15 ve IL-18) ise hayvan modellerinde [94-97] NREM uykuyu teşvik edici etkilere sahip olduğu gösterilmiştir [68]. IFN, uykuda rol oynadığı gösterilen ilk sitokinlerden biridir [98] ve uykusuzluk bildiren 254 yetişkin erkekten oluşan bir örnekleme yapılan çalışmada, diğer tıbbi bozuklukların yokluğunda daha düşük uyarılmış IFN- γ üretimi gösterilmiş ve daha düşük bir IFN- γ /IL-4 oranı uykusuzluk ile ilişkilendirilmiştir [99].

2.6. Huzursuz Bacaklar Sendromu, Obstrüktif Uyku Apne Sendromu ve Bağışıklık Sistemi

HBS/WEH patogenezinde genetik ve çevresel mekanizmalar mevcuttur. Bunun yanı sıra, HBS'nin sistemik enflamatuvar hastalıklar ve ince bağırsakta aşırı bakteri çoğalması ile ilişkili olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Streptokok, Lyme, mikoplazma, insan bağışıklık yetmezlik virüsü ve hepatit C virüsü gibi enfeksiyona neden olan patojenler de HBS artışına neden olabilmektedir. Enflamatuvar süreçler semptomların alevlenmesine neden olduğu için enflamasyonun HBS patogenezi ile ilişkili olabileceği öngörülmüştür [100, 101]. 2016 yılında Ceyhun Varım ve çalışma arkadaşlarının nötrofil/lenfosit (N/L) oranını kullanarak sistemik enflamasyon ve HBS/WEH arasındaki ilişkiyi araştırdıkları çalışmalarında, HBS/WEH hastalarında N/L oranının çok daha yüksek olduğunu göstermişler ve HBS/WEH ile bağışıklık sistemi arasındaki muhtemel ilişkiyi ortaya koymuşlardır [102]. Benzer şekilde 102 HBS hastası ve 51 sağlıklı gönüllünün dahil olduğu başka bir çalışmada, HBS hastalarında sağlıklı kontrol grubuna göre nötrofil sayısı yüksek, lenfosit sayısı ise düşük olarak saptanmıştır [103].

Son yıllarda yapılan çalışmalar, OUAS ile ilişkili enflamatuvar süreçlerin de OUAS'ın patofizyolojisinde rol oynayabileceğini ve/veya hastalığın şiddeti ile ilişkili olabileceğini öne sürmüşlerdir. Hong Xie ve arkadaşları CD3⁺CD4⁺ T hücreleri ve CD19⁺ B hücrelerinin yüzdesinin ve CD4⁺/CD8⁺ T hücre oranının OUAS hastalarında

kontrol grubuna göre önemli ölçüde arttığını ve $CD3^+CD16^+CD56^+$ NK hücre benzeri NKT hücrelerinin ve $CD3^-CD16^+CD56^+$ NK hücrelerinin oranlarının, kontrol grubundakilere göre önemli ölçüde azaldığını ($p<0.001$) göstermişlerdir [104]. Hong Xie ve arkadaşlarının bulgularının aksine, Joanna DomagaBa-Kulawik ve arkadaşları, kontrol denekleri ile karşılaştırıldığında OSA hastalarında, $CD19^+$ B ve $CD4^+/CD8^+$ T hücre oranlarının düşük, Tc, NK, NKT ve HLA-DR pozitif T hücre oranlarının daha yüksek olduğunu göstermiştir [105].



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubu

Çalışmamıza 30-65 yaş aralığında ;

- HBS tanısı konmuş kadın ve erkek bireyler,
- OUAS ile birlikte görülen HBS tanısı konmuş kadın ve erkek bireyler,
- Yaş ve cinsiyet uyumlu sağlıklı kontrol grubu,

dahil olmak üzere toplam 39 olgu dahil edilmiştir.

Çalışma için her bir olgudan 9 ml heparinli periferik kan örneği alınmıştır.

Tablo 3.1: Hastaların klinik özellikleri (Demografik özellikleri)

	HBS	HBS + OUAS	Sağlıklı kontrol
Örnek Sayısı (Erkek/Kadın)	14(4/10)	15(6/9)	10(5/5)
Yaş Ortalaması (+/- SP)	50,14 (8,6)	53 (6,7)	53,6 (10,52)
AHI (<15)	3	-	
AHI (<30)	-	4	
AHI (>30)	-	11	
Periyodik Bacak Hareketi sayısı /saatte	20,4	42.3	
Uyku Latansı (dk)	32	25	
REM Uyku Latansı (dk)	133	135	

3.2. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

ICSD-III (International Classification of Sleep Disorders-Third Edition) tanı kriterlerine göre HBS tanısı veya HBS tanısı ile birlikte OUAS tanısı almış gönüllü bireyler çalışmaya dahil edilmiştir.

3.2.1. ICSD III, 2014 /Tanı Kriterleri

A. Bacakları hareket ettirme dürtüsüne, rahatsız edici ve hoş olmayan bir duyum eşlik eder veya bu dürtünün onun sonucu olduğu düşünülür.

Bu semptomlar:

1. Uzanma ve oturma gibi istirahat ve hareketsizlik durumlarında başlar veya artar.

2. Yürüme, bacakları germe gibi hareketler sırasında, aktivite devam ettiği süre boyunca, kısmi veya tam olarak geçer.

3. Akşam veya gece saatlerinde kendini gösterir veya akşam ve gece saatlerinde gündüze göre belirgin ölçüde daha şiddetlidir.

B. Yukarıdaki belirtiler semptomlar, diğer tıbbi veya davranışsal bir duruma bağlı semptom ile tek başına açıklanamaz.

C. HBS/WEH semptomları uyku bozukluğuna yol açar veya mental, fiziksel, sosyal, iş, eğitim, davranış veya diğer bir fonksiyonel alanda bozukluğa neden olur.

3.2.2. ICSD III, 2014 /Tanı Kriterleri; A+B Kriterleri veya C Bulunmalıdır

A. Aşağıdaki semptomlardan en az birinin bulunması;

1. Gündüz uyku hali, dinlendirmeyen uyku, yorgunluk, insomni
2. Hastanın uykusundan nefes durması veya kesilmesi ile uyanması
3. Hastanın yatak partneri veya başka bir gözlemci tarafından habitüel horlama, uykuda nefes durması veya her ikisinin tanımlanması
4. Hastada hipertansiyon, koroner arter hastalığı, konjestif kalp yetmezliği, atrial fibrilasyon, inme, tip 2 diabetes mellitus, duygudurum bozukluğu veya kognitif disfonksiyon bulunması.

B. PSG veya OCST (sınırlı parametrelili cihazlar) ile yapılan kayıta; saatte 5 veya daha fazla obstrüktif apne, mikst apne, hipopne veya solunum eforu ile ilişkili arousal (respiratory effort related arousal-RERA) saptanması,

C. Semptomlara bakılmaksızın, PSG veya OCST'de saatte 15 veya daha fazla obstrüktif apne, mikst apne, hipopne veya RERA saptanması tanı için yeterlidir.

3.3. Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri

- Parkinson, multipl skleroz gibi nörolojik hastalık tanısı almış olması
- Sistemik lupus eritematozus veya romatoid artrit, gibi sistemik enflamatuvar hastalık tanısı almış olması
- Otoimmün hastalık tanısı almış olması
- Kronik böbrek yetmezliği olması
- Kronik karaciğer hastalığı olması

- Kanser öyküsü olması
- Hamile ve/veya emzirme döneminde olması
- Herhangi bir nedenle steroid tedavisi almış olması
- Bağışıklık sistemini baskılayıcı ilaç kullanmış olması (son 6 ay içinde)
- 30 yaşından küçük, 65 yaşından büyük olması

Çalışmaya katılacak gönüllülerin diyabet veya hipertansiyona sahip olmaları çalışmaya katılmalarına engel teşkil etmemektedir.

3.4. Kan Örneklerinin Alımı ve Laboratuvara Transferi

İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı Uyku ve Bozuklukları Birimine başvuran ICSD-III tanı kriterlerine göre idiyopati HBS/WEH tanısı veya HBS/WEH tanısı ile birlikte OUAS tanısı almış olan gönüllü bireylerden 9 ml kan heparin içeren kan tüpüne (BD Vacutainer®) alınmıştır.

Kan alımını takiben kan tüpleri, normal oda ısısında, özel bir soğutma uygulanmadan, İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü İmmünoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarına hızla ulaştırılarak çalışma burada sürdürülmüştür. Laboratuvara ulaşan kan örneklerinde pıhtı bulunması veya kapaklarının sterilitiyi bozacak şekilde önceden açılmış olması halinde bu kan örnekleri dışlanmıştır.

3.5. Periferik Kan Mononükleer Hücrelerin Eldesi

Kan örneklerinden, yoğunluk gradient santrifüj ayırımı yöntemiyle, periferik kan mononükleer hücreler (PKMH) elde edilmiştir. PKMH eldesi için gelen kan örneği 1:1 oranında Ficoll-Paque Plus üzerine yayılarak 20 dakika boyunca, 20°C’de, 2000 rpm’de santrifüj edilmiştir. Ficoll üzerine yayılan kandaki hücreler santrifüj edildikten sonra plazma, PKMH, Ficoll ve eritrosit/granülositler (yukarıdan aşağıya doğru) olarak yoğunluklarına göre tabakalara ayrılır. Üst tabaka da bulunun plazma örnekleri pastör pipeti yardımıyla toplanıp 2 adet ependorfa alınarak -20°C’de saklanmıştır. Oluşan interfaz tabakasında bulunan PKMH’ler pastör pipeti yardımıyla toplanıp üzerlerine PBS çözeltisi eklenerek 5 dakika 1800rpm’de 20°C’de santrifüj edilmiştir. Bu aşamadan sonra tüpteki süpernatant uzaklaştırılarak pellet PBS ile resüspanse edilerek 5 dakika

1800rpm'de 4°C'de tekrar santrifüj edilmiş ve 1 ml RPMI 1640 (Gibco, Thermo Fisher Scientific Inc, Göteborg, Sweden) ile çözdürülmüştür.

3.6. T, B, NK ve ILC Hücre Gruplarının Belirlenmesi

100 µl 1×10^4 PKMH üzerine floresan işaretli anti-CD3, anti-CD4, anti-CD8, anti-CD19, anti-CD56, anti-CD16 monoklonal antikoları ve 300 µl 5×10^6 PKMH üzerine anti-CD1a, anti-CD4, anti-THR- $\alpha\beta$, anti-THR- $\gamma\delta$, anti-CD3, anti-CD11c, anti-CD14, anti-D94, anti-CD19, anti-CD123, anti-CD303, anti-CD34, anti-Fc ϵ R1 α , anti-CD16, anti-NKp44, anti-CD161, anti-CD127, anti-CRTH2-CD294, anti-c-Kit-CD117, anti-CD45 monoklonal antikoları (Tablo 3. 2) uygun konsantrasyonlarda eklenmiş ve oda sıcaklığında 20 dakika karanlıkta inkübe edilmiştir. İnkübasyon işleminden sonra izotonik bir tampon çözelti olan 2 ml PBS eklenerek 5 dk 1800 rpm'de santrifüj edilmiştir (yıkama işlemi). Sonrasında üst sıvı uzaklaştırılıp %2 paraformaldehit içeren PBS ilave edilerek akan hücre ölçer cihazı ile değerlendirme yapılmıştır.

3.7. Hücre içi Sitokin ve Sitotoksik Aktivite Ölçümü

Hücre içi sitokin ölçümü: Elde edilen PKMH süspansiyonu (1×10^6 hücre/ml) üzerine hücre aktivasyon kokteyli (2 µl) (BioLegend, San Diego, California) ilave edilerek 4 saat, 37°C ve %5 CO₂ etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyonu takiben PBS solüsyonu eklenerek yıkama işlemi yapıldıktan sonra üst sıvı uzaklaştırılarak hücreler 100 µl PBS sıvısında çözdürülmüştür. Daha sonra hücre süspansiyonu üzerine floresan işaretli anti-CD3, anti-CD4, anti-CD8, anti-CD19, anti-CD16, anti-CD56 yüzey monoklonal antikolar (Tablo 3.2) uygun dilüsyonlarda eklendikten sonra 20 dakika oda sıcaklığında, karanlıkta inkübe edilmiştir. Hücre içi boyama yapmak amacıyla permeabilizasyon/fiksasyon aşamaları kit protokolüne uygun olarak tamamlanmış ve floresan işaretli anti-IFN- γ , anti-IL-6, anti-IL-13, anti-IL-10 monoklonal antikoları (Tablo 3.2) uygun dilüsyonlarda eklenerek 15 dk karanlıkta inkübe edilmiştir. Sonrasında %2 paraformaldehit içeren PBS ilave edilerek akan hücre ölçer cihazı ile değerlendirme yapılmıştır.

Sitotoksik aktivite ölçümü: 500 µl RPMI içerisinde 1×10^6 PKMH ve 1×10^5 K562 hücre hattı 4 saat boyunca 37°C ve %5 CO₂ etüvde inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası PBS solüsyonu ile yıkama işlemi yapıldıktan sonra üst sıvı uzaklaştırılarak hücreler 100 µl PBS solüsyonu ile resüspanse edilmiştir. Hücre süspansiyonu üzerine floresan işaretli anti-CD3, anti-CD8, anti-CD16, anti-CD56 yüzey monoklonal

antikorlar (Tablo 3.2) uygun dilüsyonlarda eklenerek 20 dakika oda sıcaklığında, karanlıkta inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası PBS ile 1800 rpm de 5 dk yıkanan hücrelerin üzerine permeabilizasyon/fiksasyon solüsyonu eklenmiş ve 20 dk oda ısısında inkübe edilmiştir. Daha sonra PermWash solüsyonu ile tekrar yıkama yapılmış ve hücreler 100 µl PermWash sıvısı içerisinde resüspanse edildikten sonra floresan işaretli anti-IFN- γ , anti-IL-6, anti-IL-13, anti-IL-10 monoklonal antikorları (Tablo 3.2) uygun dilüsyonlarda eklenerek 15 dk karanlıkta inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında %2 paraformaldehit içeren PBS ilave edilerek akan hücre ölçer cihazı ile değerlendirme yapılmıştır.

Tablo 3.2: Monoklonal antikor listesi

Monoklonal antikor	Floresan rengi	Marka
Anti-human CD3	Brilliant Violet 785™	BioLegend, San Diego, California
Anti-human CD16	Brilliant Violet 570™	BioLegend, San Diego, California
Anti-human CD56	Brilliant Violet 711™	BioLegend, San Diego, California
Anti-human CD4	PE/Cyanine5	BioLegend, San Diego, California
Anti-human CD8	FITC	BioLegend, San Diego, California
Anti-human CD19	APC/Cyanine7	BioLegend, San Diego, California
Anti-human CD1a	FITC	BioLegend, San Diego, California
Anti-human CD4	FITC	BioLegend, San Diego, California
Anti-human THR- $\alpha\beta$	FITC	BioLegend, San Diego, California
Anti-human THR- $\gamma\delta$	FITC	BioLegend, San Diego, California
Anti-human CD3	FITC	BioLegend, San Diego, California
Anti-human CD11c	FITC	BioLegend, San Diego, California
Anti-human CD14	FITC	BioLegend, San Diego, California
Anti-human CD94	FITC	BioLegend, San Diego, California

Anti-human CD19	FITC	BioLegend, San Diego, California
Anti-human CD123	FITC	BioLegend, San Diego, California
Anti-human CD303	FITC	BioLegend, San Diego, California
Anti-human CD34	FITC	BioLegend, San Diego, California
Anti-human FcεR1α	FITC	BioLegend, San Diego, California
Anti-human CD16	FITC	BioLegend, San Diego, California
Anti-human NKp44	PE	BioLegend, San Diego, California
Anti-human CD161	PerCP Cy5.5	BioLegend, San Diego, California
Anti-human CD127	PE-Cy7	BioLegend, San Diego, California
Anti-human CRTH2	APC	BioLegend, San Diego, California
Anti-human c-Kit	Brilliant Violet 421	BioLegend, San Diego, California
Anti-human CD45	Brilliant Violet 510	BioLegend, San Diego, California
Anti-human IFN-γ	PE/Cyanine7	BioLegend, San Diego, California
Anti-human IL-13	APC	BioLegend, San Diego, California
Anti-human IL-10	Brilliant Violet 421™	BioLegend, San Diego, California
Anti-human IL-6	PE	BioLegend, San Diego, California
Anti-human Perforin	PE/Cyanine7	BioLegend, San Diego, California
Anti-human/mouse Granzyme B	Alexa Fluor® 700	BioLegend, San Diego, California

Tablo 3.3: Panel listesi

Panel	Hücre Belirteçleri
T, B ve NK paneli	CD3, CD4, CD8, CD19, CD16, CD56
ILC paneli	CD1a, CD4, THR-αβ, THR-γδ, CD3, CD11c, CD14, D94, CD19, CD123, CD303, CD34, FcεR1α, CD16, NKp44, CD161, CD127,

	CRTH2-CD294, c-Kit-CD117, CD45
Hücre içi sitokin paneli	CD3, CD4, CD8, CD19, CD16, CD56, IFN- γ , IL-6, IL-13, IL-10
Sitotoksik aktivite paneli	CD3, CD8, CD16, CD56, Perforin, Granzim B

T, B, NK paneli ile T Hücre alt grupları, B ve NK hücre oranları analiz edilmiştir. ILC paneli ile Grup1, Grup2 ve Grup3 ILC hücreleri oranları analiz edilmiştir. Hücre içi sitokin paneli ile T, B ve NK hücre IFN- γ , IL-6, IL-13, IL-10 seviyeleri saptanmıştır. Sitotoksik aktivite paneli ile T ve NK hücrelerinin sitotoksik aktivite analizi yapılmıştır (Tablo3.3).

Tablo 3.4: Cihaz listesi

Cihaz listesi	Marka-model
Mikropipet (20 μ l, 100 μ l, 1000 μ l)	Axypet Pipetmen
Laminar kabin	Nüve LN 120
Etüv	THERMO scientific
Akan hücre ölçer cihazı- ACEA NovoCyte Flow Cytometer FACS ARIA II	ACEA Biosciences Becton Dickinson
Vorteks	DigitMex

Tablo 3.5: Sarf malzeme listesi

Sarf malzeme listesi	Marka-model
Hücre aktivasyon kokteyli	BioLegend, San Diego, California
Cyto-Fast™ Fix/Perm Buffer Set	BioLegend, San Diego, California
Gibco, RPMI 1640	Thermo Fisher Scientific Inc, Göteborg, Sweden
Ficoll-Paque Plus	GE-Healthcare Bio-sciences, Uppsala, Sweden

3.8. Plazma Sitokin Tayini

Plazma örnekleri akan hücre ölçer cihazında boncuk temelli çözünür molekül düzeyi belirleme yöntemi - LEGENDplex™ Mix and Match (BioLegend, San Diego, California) kiti kullanılarak çalışılmıştır. Çalışmada TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-13 düzeyleri pg/mL cinsinden tayin edilmiştir. Çalışmaya başlamadan önce plazma örnekleri ve kit oda ısısına getirilmiştir. Mix bead, yıkama solusyonu, matrix B ve standartlar kit prosedürüne uygun şekilde hazırlanmıştır. Plazma örnekleri 1:2 oranında dilüe edilmiştir. Hazırlanan standartlar ve dilüe edilen plazma örnekleri 25 μ l olacak şekilde belirlenen şablona uygun şekilde kuyulara konulmuştur. Daha sonra standart kuyularına 25 μ l matrix B örnek kuyularına ise 25 μ l assay buffer eklenmiştir. Hazırlanan mix bead vortexlendikten sonra her bir kuyuya 25 μ l olacak şekilde eklenmiş ve plate ışıktan korunması için uygun şekilde kapatılıp 2 saat 800 rpm çalkalayıcıda karanlıkta inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası 1050 rpm 5 dk boyunca santrifüj edilip hızlıca ters çevirilerek süpernatant uzaklaştırılmıştır. Daha sonra her bir kuyuya 200 μ l yıkama solusyonu eklenerek tekrar 1050 rpm'de 5 dk santrifüj edilip süpernatant uzaklaştırılmıştır. Yıkama işlemi sonrası her bir kuyuya 25 μ l dedection antibody eklenerek plate uygun şekilde tekrar kapatılmış ve 1 saat 800 rpm'de karanlıkta inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası 25 μ l SA-PE her bir kuyuya eklenmiş ve plate uygun şekilde kapatıldıktan sonra çalkalayıcıda (800rpm) 30 dk inkübe edilmiştir. Santrifüj ve yıkama işlemleri tekrarlanmıştır. Her bir kuyuya 150 μ l yıkama solusyonu eklenerek pellet çözdürülmüş ve U tüplere aktarılaraq akan hücre ölçer cihazında değerlendirilmiştir. Kitin serum örnekleri için minimum tespit edilebilir konsantrasyonları (MDC) tablo şeklinde verilmiştir (Tablo 3.6).

Tablo 3.6: Boncuk temelli çözünür molekül düzeyi belirleme yöntemi; minimum tespit edilebilir konsantrasyonlar

Analiz edilen molekül	MDC (pg/mL)
İnsan-IL-2	1,4
İnsan-TNF- α	1,0
İnsan-IL-4	1,0
İnsan-IL-6	1,0

İnsan-IL-10	0,7
İnsan-IL-13	1,4
İnsan-IFN- γ	1,1

3.9. Sonuçların Değerlendirilmesi ve İstatiksel Analiz

Çalışmanın istatistiksel analizleri GraphPad Prism9 programı kullanılarak yapılmıştır. Hastalardan elde edilen veriler non-parametrik bir yöntem olan Mann-Whitney U testi kullanılarak sağlıklı kontrollerden elde edilen veriler ile karşılaştırılmıştır.

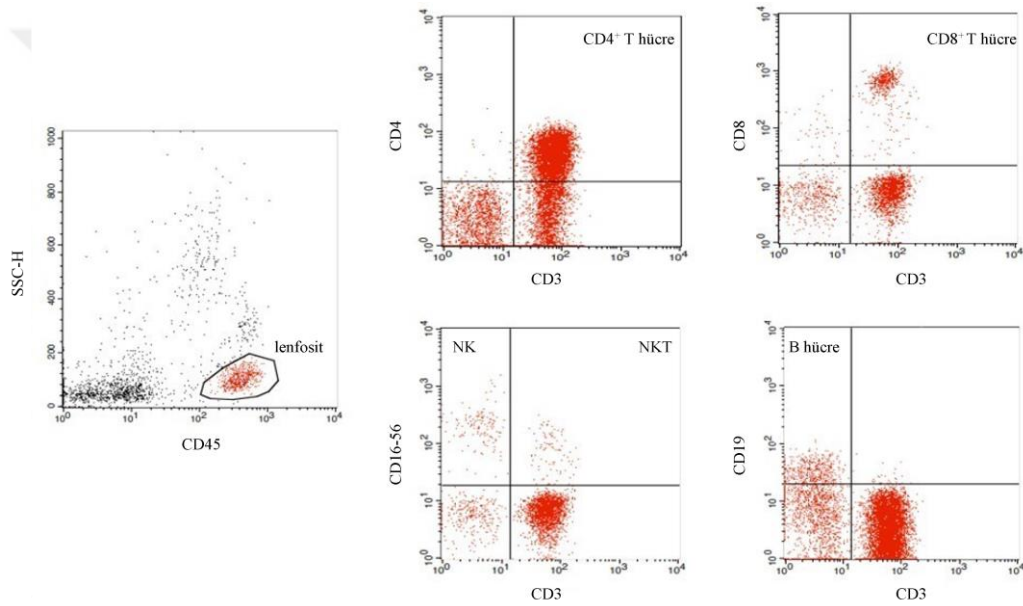


4. BULGULAR

4.1. Hücre oranları

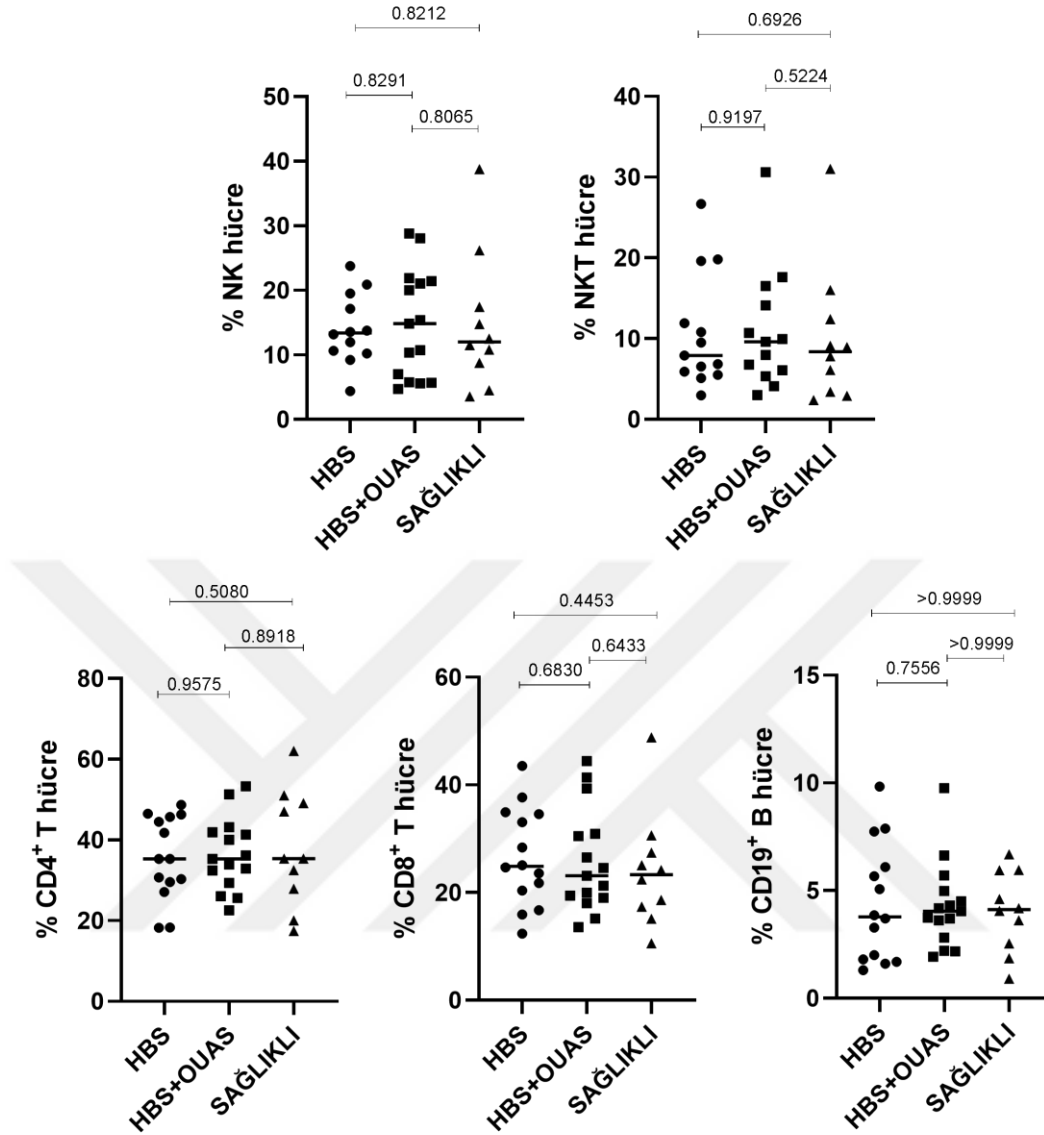
4.1.1. T, B, NK Hücre Oranları

Akan hücre ölçer cihazında side scatter (SSC) ve forward scatter (FSC) grafiğinde $CD45^+$ lenfosit popülasyonu kapılanmıştır. Lenfosit kapısında; $CD3^+CD4^+$ ve $CD3^+CD8^+$ T, $CD3^-CD19^+$ B, $CD3^-CD16/56^+$ NK hücre ve $CD3^+CD16/56^+$ NKT hücre oranları belirlenmiştir (Şekil 4.1).



Şekil 4.1: T, B, NK ve NKT Hücreleri kapılama stratejisi

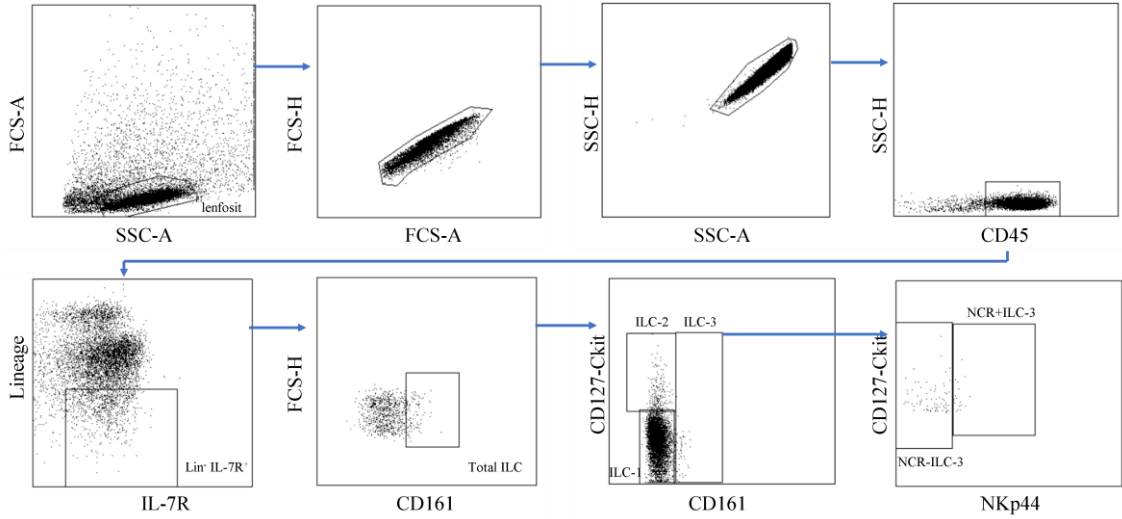
HBS ve HBS ile birlikte görülen OUAS (HBS+OUAS) grupları kendi içinde ve sağlıklı kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, $CD3^+CD4^+$ T, $CD3^+CD8^+$ T, $CD3^-CD16^+CD56^+$ NK ve $CD3^-CD19^+$ B hücre oranlarında anlamlı bir fark saptanmamıştır (Şekil 4.2).



Şekil 4.2: T, B, NK ve NKT hücreleri oranları

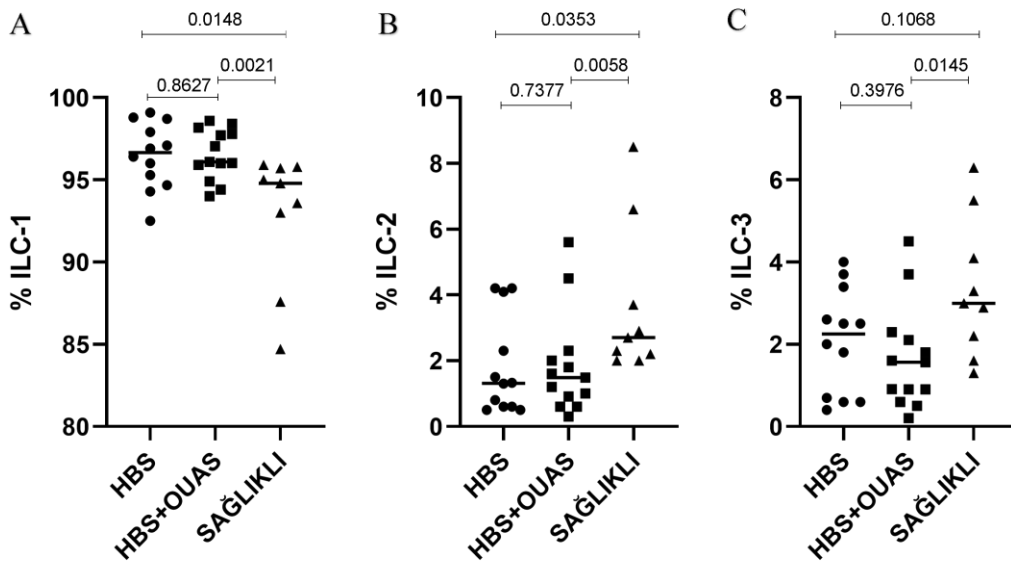
4.1.2. Doğal Lenfoid Hücre Oranları

Akan hücre ölçer cihazında side scatter (SSC), forward scatter (FSC) grafiğinde lenfosit popülasyonu kapılanmıştır. Daha sonra SSC-Alan (SSC-A) / SSC-Yükseklik (SSC-H) ve FSC-Alan (FSC-A) / FSC-Yükseklik (FSC-H) grafikleri oluşturularak tek hücre popülasyonları kapılanmıştır. SSC-CD45 grafiğinden elde edilen CD45⁺ kapısı içerisinde Linage (lin)⁻IL-7R⁺ popülasyon kapılanmıştır. Linage (lin)⁻IL-7R⁺CD161⁺ hücre grubu ILC popülasyonu olarak tanımlanmıştır. ILC popülasyonu CD127 pozitifliğine ve CD161 floresan düzeyine göre ILC alt grupları tanımlanmıştır (Şekil 4.3).



Şekil 4.3: ILC hücreleri ve alt grupları kapılama stratejisi

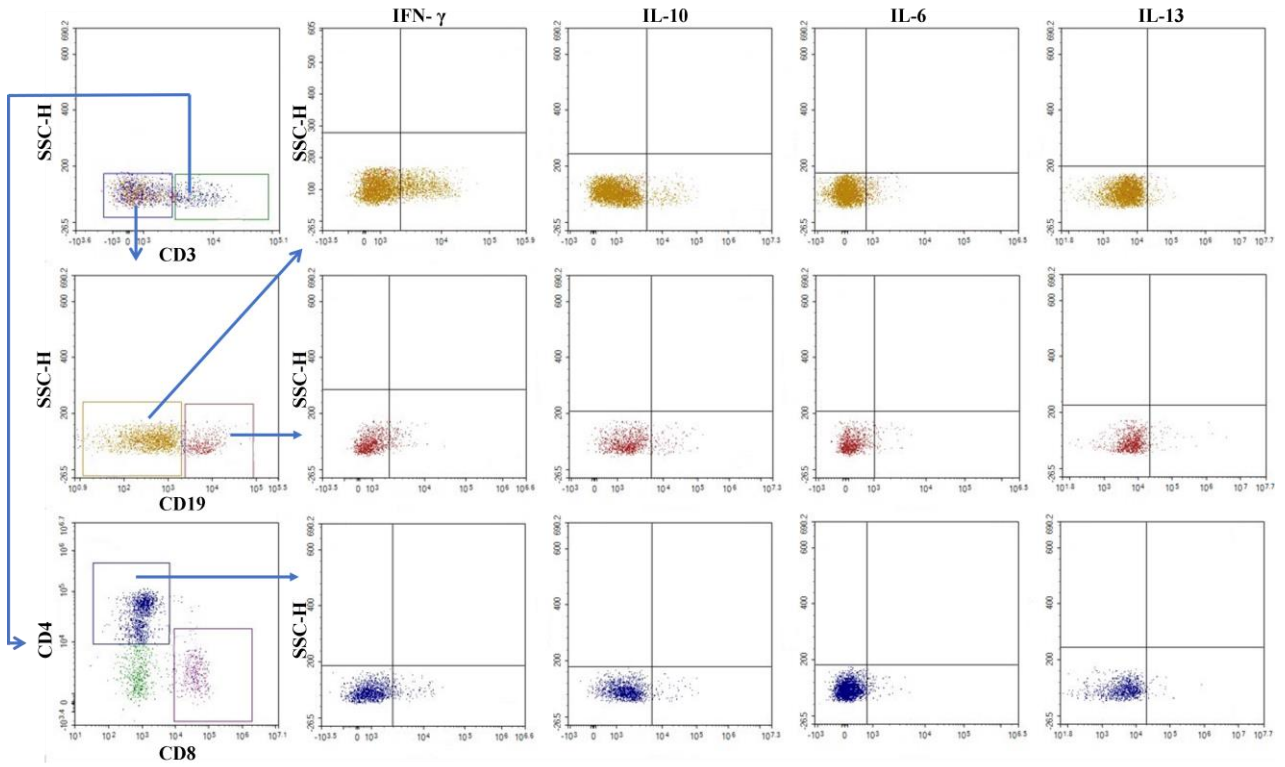
ILC alt grupları açısından HBS ve HBS+OUAS grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Hasta grupları sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ise, ILC1 hücreleri anlamlı derecede yüksek (HBS-p=0,0148, HBS+OUAS-p=0,0021), ILC2 hücreleri ise anlamlı derecede düşük (HBS-p=0,0353, HBS+OUAS-p=0,0058) bulunmuştur (Şekil 4.4-A, B). Sağlıklı kontrol grubu ile hasta grupları karşılaştırıldığında, ILC3 alt grubu, HBS+OUAS grubunda anlamlı derecede azalırken (p=0,0145) HBS grubunda anlamlı bir fark saptanmamıştır (Şekil 4.4-C).



Şekil 4.4: ILC-1, ILC-2 ve ILC-3 % oranları

4.2. Hücre İçi Sitokin Oranları

Akan hücre ölçer cihazında side scatter (SSC) ve forward scatter (FSC) grafiğinde lenfosit popülasyonu kapılanmıştır. Lenfosit popülasyonunda $CD3^+$ ve $CD3^-$ hücre popülasyonları kapılandıktan sonra, $CD3^+$ lenfosit kapısında $CD3^+CD4^+$ ve $CD3^+CD8^+$ T hücre popülasyonları kapılanmıştır. $CD3^-$ hücre popülasyonu içerisinde ise 2 ayrı grafikte $CD19^+$ B ve $CD16/56^+$ ($CD3^-CD19^-$) NK kapıları işaretlenmiştir. Ayrı ayrı kapılan $CD3^+CD4^+$ Th, $CD19^+$ B ve $CD16/56^+$ NK popülasyonları içerisinde hücre içi sitokin grafikleri oluşturularak sırasıyla; IFN- γ , IL-10, IL-6 ve IL-13 oranları belirlenmiştir (Şekil 4.5).

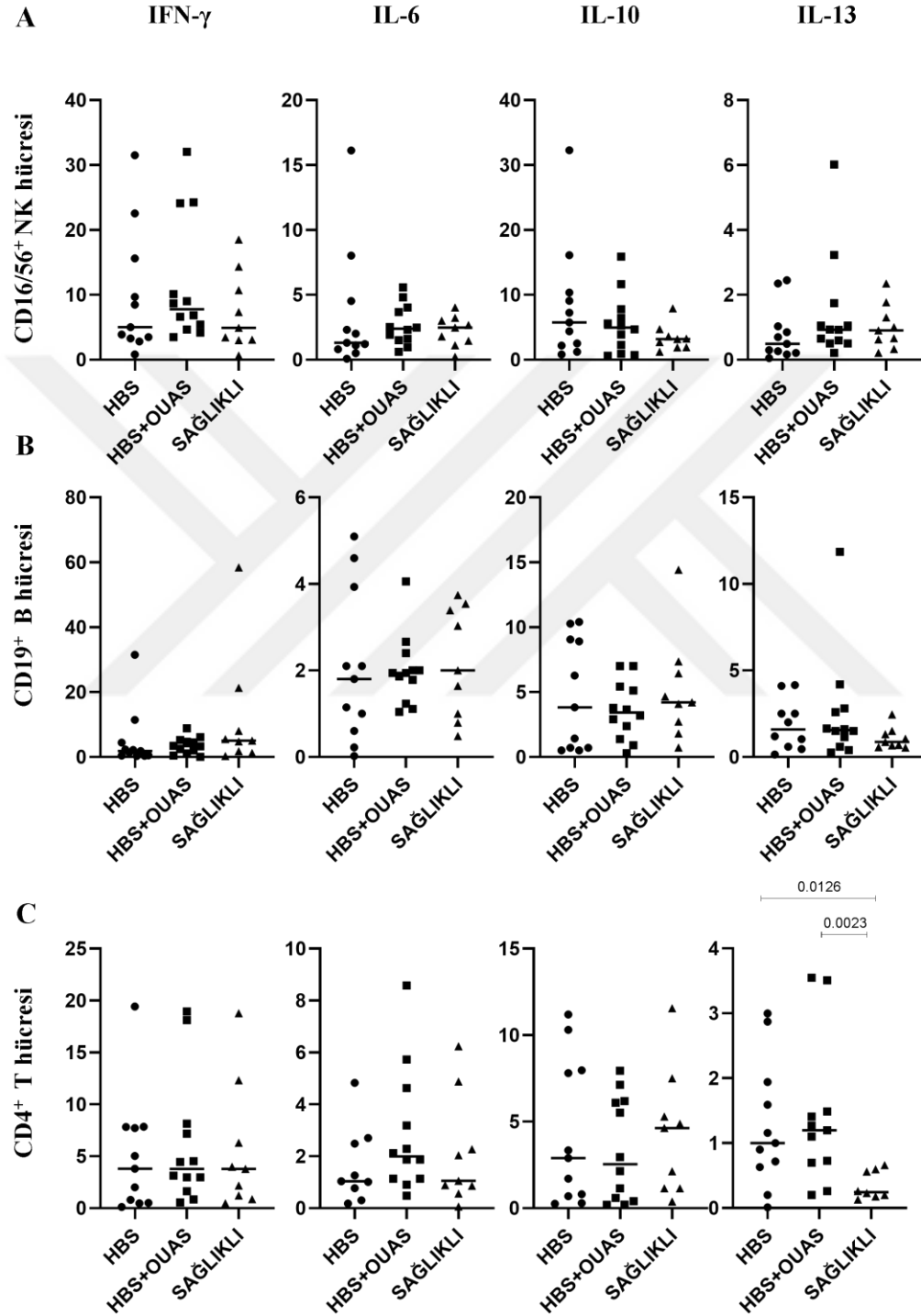


Şekil 4.5: B, $CD4^+$ T ve NK hücre içi sitokin kapılama stratejisi

Uyarım sonrası $CD3^+CD4^+$ T, $CD3^-CD19^+$ B, $CD3^-CD16^+CD56^+$ NK hücrelerinde IL-13, IL-10, IL-6 ve IFN- γ düzeyleri değerlendirildiğinde HBS ve HBS+OUAS grupları arasında anlamlı fark bulunmamıştır (Şekil 4.6-A, B, C).

HBS grubu sağlıklı kontrol grubu ile kıyaslandığında, IL-13 düzeyi $CD3^+CD4^+$ T hücrelerinde anlamlı derecede yüksek ($p=0,0126$) (Şekil 4. 6-C) saptanırken, $CD3^-CD19^+$ B ve $CD3^-CD16^+CD56^+$ NK hücrelerinde anlamlı fark tespit edilmemiştir (Şekil 4.6-A, B). HBS+OUAS grubu sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında $CD3^-CD19^+$ B ve $CD3^-CD16^+CD56^+$ NK hücrelerinde anlamlı bir fark saptanmamıştır. IL-13 düzeyi

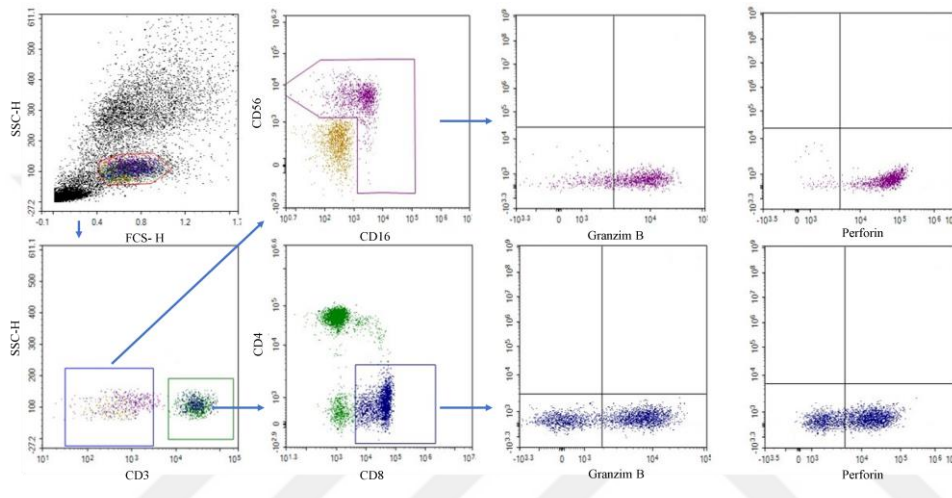
CD3⁺CD4⁺ T hücrelerinde HBS+OUAS grubunda anlamlı olarak yüksek (p=0,0023) bulunmuştur (Şekil 4.6-C).



Şekil 4.6: Hücre içi IFN- γ , IL-6, IL-13 ve IL-10 sitokin grafiği (A: NK hücre kapısı, B: CD19⁺ B hücre kapısı, C: CD4⁺ T hücre kapısı)

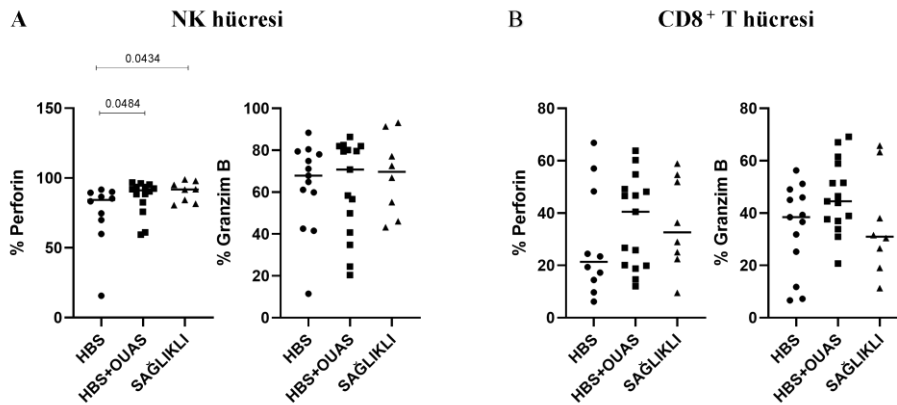
4.3. CD8⁺ T ve NK Hücreleri Perforin ve Granzim B Düzeyleri

Akan hücre ölçer cihazında side scatter (SSC) ve forward scatter (FSC) grafiğinde lenfosit popülasyonu kapılanmıştır. CD3⁺ ve CD3⁻ hücre popülasyonları lenfosit popülasyonu içerisinde işaretlendikten sonra, CD3⁺ popülasyonda CD3⁺CD8⁺ T hücreleri, CD3⁻ lenfosit popülasyonda CD3⁻CD16⁺CD56⁺ NK hücreleri kapılanmış ve sitotoksik aktivite için belirteç olarak kullanılan perforin ve granzim B düzeyleri bu hücre popülasyonlarında değerlendirilmiştir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7: NK ve CD8⁺ T hücre içi perforin ve granzim B oranları kapılama stratejisi

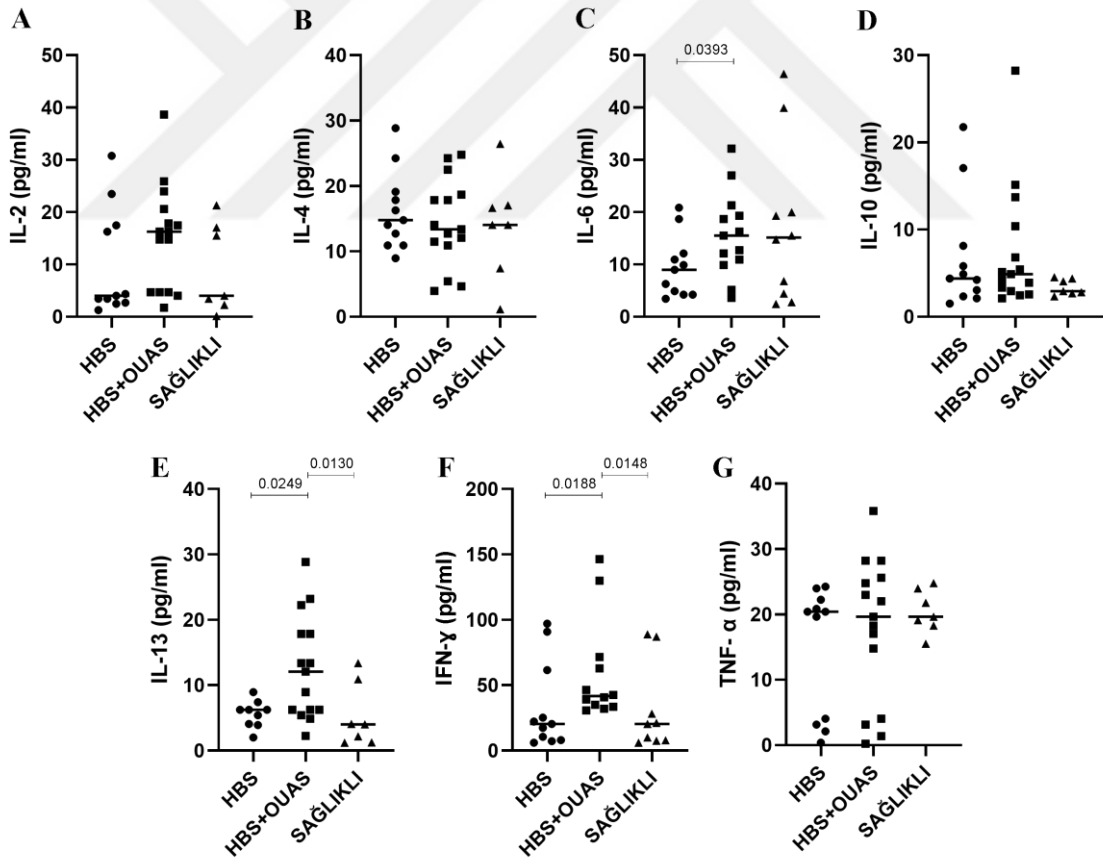
Granzim B düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamış, ancak HBS grubu diğer gruplar ile kıyaslandığında perforin seviyeleri CD3⁻CD16⁺CD56⁺ NK hücrelerinde anlamlı derecede düşük (Sağlıklı-p=0,0001, HBS+OUAS-p=0,0484) saptanmıştır (Şekil 4.8-A). CD3⁺CD8⁺ T hücre perforin düzeylerinde anlamlı bir fark tespit edilmemiştir (Şekil 4.8-B).



Şekil 4.8: Hücre içi perforin ve granzim B içeriği (A: NK hücre kapısında, B: CD8⁺ T hücre kapısında)

4.4. Plazma Sitokin Düzeyleri

IL-6, IL-2, IL-4, IL-10, IL-13, IFN- γ , TNF- α sitokin plazma düzeyleri gruplar arasında karşılaştırıldığında; HBS, HBS+OUAS ve sağlıklı kontrol gruplarında IL-2, IL-4, IL-10 ve TNF- α düzeylerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 4.9-A, B, D, G). Plazma IFN- γ düzeyi HBS+OUAS grubu diğer gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek (HBS-p=0,0352, sağlıklı-p=0,0387) olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.9-F). HBS grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı fark saptanmamıştır. Plazma IL-13 düzeyi, HBS+OUAS grubunda HBS ve sağlıklı kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı derecede yüksek (HBS-p=0,0249, sağlıklı-p=0,0069) bulunmasına karşılık (Şekil 4.9-E) HBS grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı bir fark saptanmamıştır. IL-6 seviyeleri, HBS+OUAS grubunda HBS grubuna göre anlamlı derecede yüksek (p=0,0393) (Şekil 4.9-C) saptanmasına karşılık, HBS+OUAS ve HBS grubu sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır.



Şekil 4.9: Plazma sitokin düzeyleri

5. TARTIŞMA

Nörolojik bir hastalık ve uyku bozukluğu olarak kabul edilen HBS, dinlenme halinde bacaklarda ortaya çıkan rahatsızlık hissi ve hareket ettirme dürtüsü ile karakterizedir. Dinlenme sırasında ortaya çıkan bu semptomlar ve semptomların yoğunluğu akşam veya gece artar. Sıklıkla bacaklarda spontane dönemsel sarsılmalara neden olur ve bu ciddi uyku bozukluğuna neden olarak yaşam kalitesini bozar. Hastalığın patogenezi tam olarak bilinmemekle birlikte demir ve dopamin mekanizmalarında meydana gelen bozuklukların rol oynadığı gösterilmiştir. HBS etiyolojisi birincil (idiyopatik) olabileceği gibi ikincil de olabilir. İkincil HBS'nin ortaya çıkmasında altta yatan diğer bir etmen (demir eksikliği anemisi, gebelik gibi) bulunmaktadır. Ayrıca genetik faktörlerin rolü olduğunu gösteren çalışmalar da vardır.

Bir uyku bozukluğu olan OUAS, uyku sırasında hava akışının aralıklı olarak kısmi tıkanması (hipopne) veya hava akışının tam tıkanması (apne) ile sonuçlanan klinik bir durumudur ve hipoksemiye/hiperkapniye neden olur. Bu tablo hastalarda hastalığın şiddetine bağlı olarak uyku kalitesini oldukça düşürmektedir. OUAS patogenezi çok faktörlü bir etiyolojiye sahiptir. Hasar sonucu daralmış hava yolu, kronik burun tıkanıklığı, fazla kilo ve sigara içme gibi pek çok faktör ile ilikilendirilmiştir.

İnce bağırsakta aşırı bakteri üremesi (small interstinal bacterial overgrowth, SIBO), insan immün yetmezlik virüsü (human immunodeficiency virus, HIV) enfeksiyonu ve sistemik lupus eritematoz ile ilişkili olarak HBS prevalansının arttığını gösteren çalışmalar, enflamasyonun HBS de potansiyel bir rolü olduğunu düşündürmektedir [106-109]. Bu potansiyel rolü ortaya koymak adına Ceyhun Varım ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda N/L oranının sağlıklı kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermiştir [102], ancak daha önce bağışıklık sisteminin HBS üzerindeki rolü üzerine yapılan ayrıntılı bir çalışma bulunmamaktadır.

HBS hastalarında immün sistemin potansiyel rolünü belirlemek amacıyla yaptığımız bu çalışmada ; HBS ve HBS ile birlikte OUAS hastalarından alınan periferik kan örneklerinde T, B, NK, NKT ve ILC hücreleri, CD4⁺ T, NK ve B hücrelerinde hücre içi IFN- γ , IL-6, IL-10, IL-13 sitokinleri ve CD8⁺ T ve NK hücrelerinde hücre içi

perforin ve granzim B oranları değerlendirilmiştir. Ayrıca toplanan plazma örneklerinde IFN- γ , TNF- α , IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-13 düzeyleri belirlenmiştir.

HBS üzerinde rolü olabilecek bağışıklık sistemi hücre gruplarını değerlendiren bir çalışma bulunmamakla birlikte Hong Xie ve arkadaşları OUAS hastaları ile yaptıkları çalışmada CD3⁺/CD4⁺ T lenfositleri ve CD19⁺ B hücrelerinin yüzdesinin ve CD4⁺/CD8⁺ T oranının, OUAS bulunmayan kontrol grubundakilere kıyasla arttığını göstermişlerdir [104]. OUAS hastaları ile yapılan çalışmada R. Staats ve arkadaşları OUAS hastalarında perforin pozitif CD3⁺ $\gamma\delta$ T hücrelerinin sağlıklı kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu rapor etmişlerdir. Ayrıca istatistiksel olarak anlamlı olmasada NK hücre oranının düşük olduğunu bildirmişlerdir [110]. Bu bulguların aksine OUAS hastalarında, CD19⁺ B ve CD4⁺/CD8⁺ T hücre oranlarının düşük, Tc, NK, NKT ve HLA-DR pozitif T hücre oranlarının daha yüksek olduğunu gösteren çalışma da mevcuttur. [105]. HBS ve HBS+OUAS hastalarında bağışıklık sistemi hücrelerinin (T, B, NK ve NKT) değerlendirildiği çalışmamızda, HBS ve HBS+OUAS grupları sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

HBS hastalığında doğal bağışıklık sistemi elemanları olan ILC alt gruplarını (ILC-1, ILC-2, ILC-3) inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda ILC alt grupları incelendiğinde, ILC-1 oranı sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, HBS ve HBS+OUAS gruplarında istatistiksel olarak anlamlı derecede artarken ILC-2 oranı istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük saptanmıştır. ILC-3 oranı ise yalnızca HBS+OUAS grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olarak bulunmuştur. Bu bulgu HBS ve HBS+OUAS hastalarında hücre içi enfeksiyona karşı (Th1 benzeri) yanıtın arttığını, alerjik yanıt ve parazit enfeksiyonlara karşı yanıtın (Th2 benzeri) azaldığını göstermektedir.

Uyku düzensizliğinin NK hücre aktivitesi üzerine olumsuz etki ettiği daha önce gösterilmiştir [76]. Otuz altı OUAS hastası ve 17 sağlıklı kontrol dahil edilerek yapılan bir çalışmada genel uyku düzensizliği ve NK aktivitesi bulgularının aksine CD8⁺ T hücrelerinin sitotoksik aktivitesinde artış olduğu rapor edilmiştir [111]. Çalışmamızda iki farklı uyku bozukluğu hastalığı olan HBS ve HBS+OUAS hastalarında CD8⁺ T ve NK hücrelerinin sitotoksik aktivitesi, perforin ve granzim B düzeyleri değerlendirildiğinde, uyku bozukluğunun NK üzerindeki olumsuz etkilerini destekeler şekilde, HBS grubunda NK perforin düzeyinin sağlıklı kontrol ve HBS+OUAS grubuna

göre anlamlı derecede düşük olduğu gösterilmiştir. CD8⁺ T hücre perforin ve granzim B düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. HBS hasta grubunda saptanan düşük NK sitotoksik aktivite bulguları doğal bağışıklık sisteminin tam olarak etkisini gösteremediğini düşündürmektedir.

Th1 yanıtında önemli bir rolü olan IFN- γ , CD4⁺ T hücreleri ve NK hücreleri tarafından üretilir. Makrofaj aktivasyonunu teşvik ederek ve anti-viral/anti-bakteriyel bağışıklığa aracılık ederek doğuştan gelen bağışıklık sisteminin aktivasyonunda rol alır. Ayrıca antijen sunumunu artırarak, lenfosit-endotelyum etkileşimini koordine ederek ve Th1/Th2 hücre dengesini düzenleyerek edinsel bağışıklık yanıtı etkilidir. Çalışmamızda IFN- γ plazma düzeyleri, HBS+OUAS grubunda hem sağlıklı kontrole göre hemde HBS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Fakat CD4⁺ T ve NK hücrelerinde hücre içi IFN- γ seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir bulguya rastlanmamıştır. Hücre içi IFN- γ düzeylerinde farklılık olmayıp plazma IFN- γ düzeylerinde artış saptanması salgılanan IFN- γ kaynağının immün sistemdeki diğer hücresel elemanlardan (ILC-1, makrofajlar gibi) kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Plazma IFN- γ artışının sadece HBS+OUAS grubunda olması artışın OUAS sebebiyle ortaya çıkmış olabileceği görüşünü düşündürmektedir. IFN- γ sitokininin OUAS hastalığındaki rolünün aydınlatılması için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Th2 yanıtlarında rol alan ve anti-enflamatuvar sitokin olan IL-13 B hücreleri ve mast hücreleri gelişiminde görev alır. MHC sınıf II ekspresyonu ve IgE döşümünü teşvik eder ve enflamatuvar sitokin üretimini inhibe eder. Uyku ve IL-13 ilişkisi Kubota ve arkadaşlarının 2000 yılında tavşanlar üzerinde yaptıkları çalışmalarda ortaya konmuştur. Yüksek dozlarda IL-13 ve TGF- β uygulamasının NREM uykusunu inhibe ettiğini göstermişlerdir [91]. Bu bağlamda çalışmamızda IL-13 düzeylerini incelediğimizde; CD4⁺ T hücrelerinde hücre içi IL-13 oranı hem HBS hem de HBS+OUAS grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Ayrıca plazma IL-13 düzeyi de HBS+OUAS grubunda HBS ve sağlıklı kontrol gruplarına göre anlamlı derecede yüksek olarak saptanmıştır. Kubota ve arkadaşlarının bulgularına benzer şekilde, çalışmamızda hastaların NREM3 evresinde geçirdikleri süre (toplam uyku süresine göre % olarak) HBS+OUAS grubunda HBS grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte düşük olarak tespit

edilmiştir ($p=0.07$). Bulgularımız OUAS ve HBS hastalarında IL-13 sitokinin uyku üzerindeki olumsuz etkisini doğrular nitelikte olmakla birlikte HBS hastalığında IL-13 sitokininin rolünün aydınlatılması için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Genellikle enflamasyon bölgesinde üretilen IL-6 pleotropik bir sitokindir. T ve B hücre aktivasyonu ve akut faz proteinlerinin üretilmesinde rol alarak pro-enflamatıvar etki gösterir. Ayrıca enflamasyon sonrası TNF- α çözünür reseptörleri ve IL-1 antagonistlerinin üretimini arttırmak ve nötrofillerin ortamdaki uzaklaştırılması gibi anti-enflamatıvar fonksiyonlara da sahiptir [23]. Bu görevlerinin yanı sıra IL-6'nın uyku düzenlenmesinde de rol aldığı gösterilmiştir [87-89]. Çalışmamızda T, B, NK hücre içi IL-6 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamasına karşılık plazma IL-6 düzeyi HBS+OUAS grubunda HBS grubuna göre daha düşük olarak bulunmuştur.

Çalışmaya dahil edilen örnek sayısının az olması çalışmamız açısından kısıtlayıcı bir faktördür. HBS hastalarında T, B, NK ve NKT hücrelerinin varlığı ve rolünün aydınlatılması açısından örnek sayısının artırılması önemlidir. Ayrıca immün sistemin diğer elemanları olan dendritik hücreler, kompleman sistem elemanları, bazofiller, nötrofiller, monosit ve makrofajların da değerlendirilmesi HBS hastalığında immünolojik mekanizmaların açıklanmasına yardımcı olacaktır.

Çalışmamızda HBS hastalığında hem edinsel hemde doğal bağışıklık sistemi elemanlarının rol aldığına dair veriler ortaya konmuştur. Bu alandaki daha sonraki çalışmalar HBS hastalığında etkili immün sistem elemanlarının rollerinin açıklanmasına katkıda bulunacaktır.

KAYNAKLAR

1. Abbas, A.K., A.H. Lichtman, and S. Pillai, *Cellular and molecular immunology E-book*. 2014: Elsevier Health Sciences.
2. Nicholson, L.B., *The immune system*. Essays Biochem, 2016. **60**(3): p. 275-301.
3. Delves, P.J. and I.M. Roitt, *The immune system. First of two parts*. N Engl J Med, 2000. **343**(1): p. 37-49.
4. Chaplin, D.D., *Overview of the immune response*. J Allergy Clin Immunol, 2010. **125**(2 Suppl 2): p. S3-23.
5. Parkin, J. and B. Cohen, *An overview of the immune system*. The Lancet, 2001. **357**(9270): p. 1777-1789.
6. O'Brien, K.L. and D.K. Finlay, *Immunometabolism and natural killer cell responses*. Nat Rev Immunol, 2019. **19**(5): p. 282-290.
7. Caligiuri, M.A., *Human natural killer cells*. Blood, 2008. **112**(3): p. 461-9.
8. Vivier, E., et al., *Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells*. Science, 2011. **331**(6013): p. 44-9.
9. De Grove, K.C., et al., *Characterization and Quantification of Innate Lymphoid Cell Subsets in Human Lung*. PLoS One, 2016. **11**(1): p. e0145961.
10. Vivier, E., et al., *Innate Lymphoid Cells: 10 Years On*. Cell, 2018. **174**(5): p. 1054-1066.
11. Andersen, M.H., et al., *Cytotoxic T cells*. J Invest Dermatol, 2006. **126**(1): p. 32-41.
12. Zhu, J., H. Yamane, and W.E. Paul, *Differentiation of effector CD4 T cell populations (*)*. Annu Rev Immunol, 2010. **28**: p. 445-89.
13. Cosmi, L., et al., *T helper cells plasticity in inflammation*. Cytometry A, 2014. **85**(1): p. 36-42.
14. Bradley, L.M., D.K. Dalton, and M. Croft, *A direct role for IFN-gamma in regulation of Th1 cell development*. J Immunol, 1996. **157**(4): p. 1350-8.
15. Pulendran, B. and D. Artis, *New paradigms in type 2 immunity*. Science, 2012. **337**(6093): p. 431-5.
16. Parronchi, P., et al., *IL-4 and IFN (alpha and gamma) exert opposite regulatory effects on the development of cytolytic potential by Th1 or Th2 human T cell clones*. J Immunol, 1992. **149**(9): p. 2977-83.
17. Annunziato, F., et al., *Defining the human T helper 17 cell phenotype*. Trends Immunol, 2012. **33**(10): p. 505-12.
18. Honda, K., *IL-22 from T cells: better late than never*. Immunity, 2012. **37**(6): p. 952-4.
19. Jabeen, R. and M.H. Kaplan, *The symphony of the ninth: the development and function of Th9 cells*. Curr Opin Immunol, 2012. **24**(3): p. 303-7.
20. King, C., S.G. Tangye, and C.R. Mackay, *T follicular helper (TFH) cells in normal and dysregulated immune responses*. Annu Rev Immunol, 2008. **26**: p. 741-66.
21. Dong, C., *Cytokine Regulation and Function in T Cells*. Annu Rev Immunol, 2021. **39**: p. 51-76.
22. Kelso, A., *Cytokines: principles and prospects*. Immunol Cell Biol, 1998. **76**(4): p. 300-17.
23. Tanaka, T., M. Narazaki, and T. Kishimoto, *IL-6 in inflammation, immunity, and disease*. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2014. **6**(10): p. a016295.

24. Heinrich, P.C., J.V. Castell, and T. Andus, *Interleukin-6 and the acute phase response*. Biochem J, 1990. **265**(3): p. 621-36.
25. Kishimoto, T., *Factors affecting B-cell growth and differentiation*. Annu Rev Immunol, 1985. **3**: p. 133-57.
26. Nemeth, E., et al., *IL-6 mediates hypoferremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin*. J Clin Invest, 2004. **113**(9): p. 1271-6.
27. Ouyang, W., et al., *Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease*. Annu Rev Immunol, 2011. **29**: p. 71-109.
28. Schoenborn, J.R. and C.B. Wilson, *Regulation of interferon-gamma during innate and adaptive immune responses*. Adv Immunol, 2007. **96**: p. 41-101.
29. Schroder, K., et al., *Interferon-gamma: an overview of signals, mechanisms and functions*. J Leukoc Biol, 2004. **75**(2): p. 163-89.
30. Konjevic, G.M., et al., *The role of cytokines in the regulation of NK cells in the tumor environment*. Cytokine, 2019. **117**: p. 30-40.
31. Chu, W.-M., *Tumor necrosis factor*. Cancer Letters, 2013. **322**(2): p. 222-225.
32. Herrmann, F. and R. Mertelsmann, *[Tumor necrosis factor]*. Dtsch Med Wochenschr, 1989. **114**(8): p. 312-6.
33. M, K.P. and V. Latreille, *Sleep Disorders*. Am J Med, 2019. **132**(3): p. 292-299.
34. Qureshi, A. and R.D. Ballard, *Obstructive sleep apnea*. J Allergy Clin Immunol, 2003. **112**(4): p. 643-51; quiz 652.
35. McNicholas, W.T. and P. Levy, *Sleep-related breathing disorders in adults: recommendations for syndrome definition and measurement techniques in clinical research. The Report of an American Academy of Sleep Medicine Task Force*. Sleep, 1999. **22**(5): p. 667-89.
36. Young, T., et al., *The occurrence of sleep-disordered breathing among middle-aged adults*. N Engl J Med, 1993. **328**(17): p. 1230-5.
37. Young, T., J. Skatrud, and P.E. Peppard, *Risk factors for obstructive sleep apnea in adults*. JAMA, 2004. **291**(16): p. 2013-6.
38. Rundo, J.V., *Obstructive sleep apnea basics*. Cleve Clin J Med, 2019. **86**(9 Suppl 1): p. 2-9.
39. Kara, T., *Obstrüktif Uyku Apne Sendromu: Patofizyoloji, Tanı ve Tedavi*. Arşiv Kaynak Tarama Dergisi, 2011. **20**(2): p. 118-129.
40. Sullivan, C.E., et al., *Reversal of obstructive sleep apnoea by continuous positive airway pressure applied through the nares*. Lancet, 1981. **1**(8225): p. 862-5.
41. Uçar, E. and I.Ç. NAGAŞ, *Obstrüktif Uyku Apne Sendromunda Tanı ve Tedavi Yöntemlerinde Güncel Yaklaşımlar*. Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi, 2021. **42**(1): p. 37-48.
42. Shapiro, G.K. and C.M. Shapiro, *Factors that influence CPAP adherence: an overview*. Sleep Breath, 2010. **14**(4): p. 323-35.
43. Riley, R.W., N.B. Powell, and C. Guilleminault, *Obstructive sleep apnea syndrome: a review of 306 consecutively treated surgical patients*. Otolaryngol Head Neck Surg, 1993. **108**(2): p. 117-25.
44. Venkateshiah, S.B. and O.C. Ioachimescu, *Restless legs syndrome*. Crit Care Clin, 2015. **31**(3): p. 459-72.
45. Innes, K.E., T.K. Selfe, and P. Agarwal, *Prevalence of restless legs syndrome in North American and Western European populations: a systematic review*. Sleep Med, 2011. **12**(7): p. 623-34.

46. Manconi, M., et al., *Restless legs syndrome*. Nat Rev Dis Primers, 2021. 7(1): p. 80.
47. Manconi, M., et al., *When gender matters: restless legs syndrome. Report of the "RLS and woman" workshop endorsed by the European RLS Study Group*. Sleep Med Rev, 2012. 16(4): p. 297-307.
48. Schormair, B., et al., *Identification of novel risk loci for restless legs syndrome in genome-wide association studies in individuals of European ancestry: a meta-analysis*. Lancet Neurol, 2017. 16(11): p. 898-907.
49. Winkelmann, J., et al., *Genome-wide association study identifies novel restless legs syndrome susceptibility loci on 2p14 and 16q12.1*. PLoS Genet, 2011. 7(7): p. e1002171.
50. Didriksen, M., et al., *Large genome-wide association study identifies three novel risk variants for restless legs syndrome*. Commun Biol, 2020. 3(1): p. 703.
51. Earley, C.J., et al., *Altered brain iron homeostasis and dopaminergic function in Restless Legs Syndrome (Willis-Ekbom Disease)*. Sleep Med, 2014. 15(11): p. 1288-301.
52. Earley, C.J., et al., *Abnormalities in CSF concentrations of ferritin and transferrin in restless legs syndrome*. Neurology, 2000. 54(8): p. 1698-700.
53. Connor, J.R., et al., *Profile of altered brain iron acquisition in restless legs syndrome*. Brain, 2011. 134(Pt 4): p. 959-68.
54. Earley, C.J., et al., *Connectome and molecular pharmacological differences in the dopaminergic system in restless legs syndrome (RLS): plastic changes and neuroadaptations that may contribute to augmentation*. Sleep Med, 2017. 31: p. 71-77.
55. Nelson, C., et al., *In vivo dopamine metabolism is altered in iron-deficient anemic rats*. J Nutr, 1997. 127(12): p. 2282-8.
56. Walters, A.S., et al., *Does the endogenous opiate system play a role in the Restless Legs Syndrome? A pilot post-mortem study*. J Neurol Sci, 2009. 279(1-2): p. 62-5.
57. Allen, R.P., et al., *Thalamic glutamate/glutamine in restless legs syndrome: increased and related to disturbed sleep*. Neurology, 2013. 80(22): p. 2028-34.
58. Hoppa, M.B., et al., *alpha2delta expression sets presynaptic calcium channel abundance and release probability*. Nature, 2012. 486(7401): p. 122-5.
- 59.Coderre, T.J., et al., *A comparison of the glutamate release inhibition and anti-allodynic effects of gabapentin, lamotrigine, and riluzole in a model of neuropathic pain*. J Neurochem, 2007. 100(5): p. 1289-99.
60. Inturrisi, C.E., *Pharmacology of methadone and its isomers*. Minerva Anesthesiol, 2005. 71(7-8): p. 435-7.
61. Allen, R.P., et al., *Increased CSF hypocretin-1 (orexin-A) in restless legs syndrome*. Neurology, 2002. 59(4): p. 639-41.
62. Gupta, R., et al., *High prevalence of restless legs syndrome/Willis Ekbom Disease (RLS/WED) among people living at high altitude in the Indian Himalaya*. Sleep Med, 2017. 35: p. 7-11.
63. Castillo, P.R., et al., *Prevalence of restless legs syndrome among native South Americans residing in coastal and mountainous areas*. Mayo Clin Proc, 2006. 81(10): p. 1345-7.
64. Sun, S., et al., *Association between leg motor restlessness and depression among Chinese males living at high-altitude: the mediating role of insomnia*. Sleep Breath, 2021. 25(2): p. 979-987.

65. Allen, R.P., et al., *Restless legs syndrome/Willis-Ekbom disease diagnostic criteria: updated International Restless Legs Syndrome Study Group (IRLSSG) consensus criteria--history, rationale, description, and significance*. *Sleep Med*, 2014. **15**(8): p. 860-73.
66. Garcia-Borreguero, D., et al., *Pregabalin versus pramipexole: effects on sleep disturbance in restless legs syndrome*. *Sleep*, 2014. **37**(4): p. 635-43.
67. Aurora, R.N., et al., *The treatment of restless legs syndrome and periodic limb movement disorder in adults--an update for 2012: practice parameters with an evidence-based systematic review and meta-analyses: an American Academy of Sleep Medicine Clinical Practice Guideline*. *Sleep*, 2012. **35**(8): p. 1039-62.
68. Besedovsky, L., T. Lange, and M. Haack, *The Sleep-Immune Crosstalk in Health and Disease*. *Physiol Rev*, 2019. **99**(3): p. 1325-1380.
69. Besedovsky, L., T. Lange, and J. Born, *Sleep and immune function*. *Pflugers Arch*, 2012. **463**(1): p. 121-37.
70. Benca, R.M. and J. Quintas, *Sleep and host defenses: a review*. *Sleep*, 1997. **20**(11): p. 1027-37.
71. Dinges, D.F., et al., *Sleep deprivation and human immune function*. *Adv Neuroimmunol*, 1995. **5**(2): p. 97-110.
72. Opp, M.R. and L. Imeri, *Sleep as a behavioral model of neuro-immune interactions*. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*, 1999. **59**(1): p. 45-53.
73. Turrin, N.P. and C.R. Plata-Salaman, *Cytokine-cytokine interactions and the brain*. *Brain Res Bull*, 2000. **51**(1): p. 3-9.
74. Krueger, J.M., et al., *Cytokines in sleep regulation*. *Adv Neuroimmunol*, 1995. **5**(2): p. 171-88.
75. Krueger, J.M., et al., *Sleep, microbes and cytokines*. *Neuroimmunomodulation*, 1994. **1**(2): p. 100-9.
76. Irwin, M., *Effects of sleep and sleep loss on immunity and cytokines*. *Brain Behav Immun*, 2002. **16**(5): p. 503-12.
77. Irwin, M., et al., *Partial night sleep deprivation reduces natural killer and cellular immune responses in humans*. *FASEB J*, 1996. **10**(5): p. 643-53.
78. Ruiz, F.S., et al., *Immune alterations after selective rapid eye movement or total sleep deprivation in healthy male volunteers*. *Innate Immun*, 2012. **18**(1): p. 44-54.
79. Wilder-Smith, A., et al., *Impact of partial sleep deprivation on immune markers*. *Sleep Med*, 2013. **14**(10): p. 1031-4.
80. Dinges, D.F., et al., *Leukocytosis and natural killer cell function parallel neurobehavioral fatigue induced by 64 hours of sleep deprivation*. *J Clin Invest*, 1994. **93**(5): p. 1930-9.
81. van Leeuwen, W.M., et al., *Sleep restriction increases the risk of developing cardiovascular diseases by augmenting proinflammatory responses through IL-17 and CRP*. *PLoS One*, 2009. **4**(2): p. e4589.
82. Irwin, M., T.L. Smith, and J.C. Gillin, *Electroencephalographic sleep and natural killer activity in depressed patients and control subjects*. *Psychosom Med*, 1992. **54**(1): p. 10-21.
83. Irwin, M., et al., *Partial sleep deprivation reduces natural killer cell activity in humans*. *Psychosom Med*, 1994. **56**(6): p. 493-8.
84. Moldofsky, H., et al., *Effects of sleep deprivation on human immune functions*. *FASEB J*, 1989. **3**(8): p. 1972-7.

85. Matsumoto, Y., et al., *Total sleep deprivation induces an acute and transient increase in NK cell activity in healthy young volunteers*. Sleep, 2001. **24**(7): p. 804-9.
86. Krueger, J.M. and L.A. Toth, *Cytokines as regulators of sleep*. Ann N Y Acad Sci, 1994. **739**: p. 299-310.
87. Spath-Schwalbe, E., et al., *Acute effects of recombinant human interleukin-6 on endocrine and central nervous sleep functions in healthy men*. J Clin Endocrinol Metab, 1998. **83**(5): p. 1573-9.
88. Vgontzas, A.N., et al., *Elevation of plasma cytokines in disorders of excessive daytime sleepiness: role of sleep disturbance and obesity*. J Clin Endocrinol Metab, 1997. **82**(5): p. 1313-6.
89. Vgontzas, A.N., et al., *Circadian interleukin-6 secretion and quantity and depth of sleep*. J Clin Endocrinol Metab, 1999. **84**(8): p. 2603-7.
90. Dimitrov, S., et al., *Sleep enhances IL-6 trans-signaling in humans*. FASEB J, 2006. **20**(12): p. 2174-6.
91. Kubota, T., et al., *Interleukin-13 and transforming growth factor-beta1 inhibit spontaneous sleep in rabbits*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2000. **279**(3): p. R786-92.
92. Kushikata, T., J. Fang, and J.M. Krueger, *Interleukin-10 inhibits spontaneous sleep in rabbits*. J Interferon Cytokine Res, 1999. **19**(9): p. 1025-30.
93. Kushikata, T., et al., *Interleukin-4 inhibits spontaneous sleep in rabbits*. Am J Physiol, 1998. **275**(4): p. R1185-91.
94. Hogan, D., et al., *Interleukin-6 alters sleep of rats*. J Neuroimmunol, 2003. **137**(1-2): p. 59-66.
95. Kubota, T., et al., *Interleukin-15 and interleukin-2 enhance non-REM sleep in rabbits*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2001. **281**(3): p. R1004-12.
96. Kubota, T., et al., *Interleukin-18 promotes sleep in rabbits and rats*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2001. **281**(3): p. R828-38.
97. Kubota, T., et al., *Tumor necrosis factor receptor fragment attenuates interferon-gamma-induced non-REM sleep in rabbits*. J Neuroimmunol, 2001. **119**(2): p. 192-8.
98. Smedley, H., et al., *Neurological effects of recombinant human interferon*. Br Med J (Clin Res Ed), 1983. **286**(6361): p. 262-4.
99. Sakami, S., et al., *Coemergence of insomnia and a shift in the Th1/Th2 balance toward Th2 dominance*. Neuroimmunomodulation, 2002. **10**(6): p. 337-43.
100. Weinstock, L.B., A.S. Walters, and P. Pauksakon, *Restless legs syndrome--theoretical roles of inflammatory and immune mechanisms*. Sleep Med Rev, 2012. **16**(4): p. 341-54.
101. Akyıldız, U.O., *Narkolepsi ve Diğer Uyku Hastalıklarında İmmün Sistem ve Enflamasyonun Rolü*. Journal of Turkish Sleep Medicine, 2017. **4**(1): p. 140.
102. Varim, C., et al., *Association between the neutrophil-to-lymphocyte ratio, a new marker of systemic inflammation, and restless legs syndrome*. Singapore Med J, 2016. **57**(9): p. 514-6.
103. Reyhani, A. and V. Kabeloğlu, *<Huzursuz Bacaklar Sendromunda Enflamasyonun değerlendirilmesi.pdf>*. Journal of Turkish Sleep Medicine 2021: p. 136-141.
104. Xie, H., et al., *Differential expression of immune markers in the patients with obstructive sleep apnea/hypopnea syndrome*. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2019. **276**(3): p. 735-744.

105. Domagala-Kulawik, J., et al., *T, B, and NKT Cells in Systemic Inflammation in Obstructive Sleep Apnoea*. Mediators Inflamm, 2015. **2015**: p. 161579.
106. Weinstock, L.B. and A.S. Walters, *Restless legs syndrome is associated with irritable bowel syndrome and small intestinal bacterial overgrowth*. Sleep Med, 2011. **12**(6): p. 610-3.
107. Hassan, N., et al., *Systemic lupus and risk of restless legs syndrome*. J Rheumatol, 2011. **38**(5): p. 874-6.
108. Happe, S., et al., *Comorbidity of restless legs syndrome and HIV infection*. J Neurol, 2007. **254**(10): p. 1401-6.
109. Matsuo, M., et al., *Restless legs syndrome: association with streptococcal or mycoplasma infection*. Pediatr Neurol, 2004. **31**(2): p. 119-21.
110. Staats, R., et al., *Decrease of perforin positive CD3(+)gammadelta-T cells in patients with obstructive sleep disordered breathing*. Sleep Breath, 2018. **22**(1): p. 211-221.
111. Dyugovskaya, L., et al., *Activated CD8+ T-lymphocytes in obstructive sleep apnoea*. Eur Respir J, 2005. **25**(5): p. 820-8.

HAM VERİLER



FORMLAR

PATENT HAKKI İZİNİ

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

HUZURSUZ BACAK SENDROMULU HASTALARDA DOĞAL VE EDİNSEL BAĞIŞIKLIK SİSTEMİ ELEMANLARININ ROLÜ

ORJİNALLİK RAPORU

% 13	% 11	% 5	% 5
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 4
2	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	% 1
3	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	% 1
4	dergipark.org.tr İnternet Kaynağı	% 1
5	9lib.net İnternet Kaynağı	<% 1
6	www.frontiersin.org İnternet Kaynağı	<% 1
7	hdl.handle.net İnternet Kaynağı	<% 1
8	Submitted to Ondokuz Mayıs Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
9	Submitted to Ataturk Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1