

Silya Bozukluklarında Elektron Mikroskopisi

Serap Şırvancı, Özlem Tuğçe Çilingir Kaya

Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul-Türkiye

Yazışma Adresi / Address reprint requests to: Serap Şırvancı,
Marmara Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul-Türkiye
Elektronik posta adresi / E-mail address: ssırvanci@yahoo.com
Kabul tarihi / Date of acceptance: 13 Mart 2012 / March 13, 2012

ÖZET

Silya bozukluklarında elektron mikroskopisi

Primer silyer diskinezi (PSD) silyanın konjenital bozuklukları sonucunda ortaya çıkan hastalıkları kapsamaktadır. Teşhis, klinik öykü, anormal silyer vuruş frekansı ve geçirimli elektron mikroskopunda izlenen spesifik aksonem bozuklukları ile konulmaktadır. PSD teşhisinde klinik ve ışık mikroskopisi ile tanı konulamayan vakalarda elektron mikroskopisi değerlendirilmesi önem kazanmaktadır. Silyadaki mikrotübül bozukluğu, dinein kolu eksikliği, oryantasyon bozukluğu gibi anomaliler ışık mikroskopu ile tespit edilemez; bu gibi bozukluklarda elektron mikroskopisi tek seçenektir. Tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonu olan hastalarda silyer oryantasyon ölçümü yapılmalıdır; çünkü bazı hastalarda tek bozukluk bu olabilmektedir. Silyer bozukluklar primer (kalıtsal) ya da enfeksiyon, sigara ve hava kirliliği gibi çevresel faktörlerin neden olduğu sekonder (edinsel) bozukluklar olarak sınıflandırılmaktadır. Epitel hücre ve silya bozuklukları edinsel nedenlerden dolayı da ortaya çıkabileceğinden, PSD'nin teşhisi güç olabilmektedir. Bu nedenle primer ve sekonder yapısal ve fonksiyonel silya bozuklukları arasında ayırım yapmak önemlidir. Elektron mikroskopik analiz ince-yapısal bozuklukların ayırımını yapmada tek seçenek olarak karşımıza çıkmaktadır. PSD teşhisinde kullanılan elektron mikroskopik değerlendirme, yalnızca tekrarlayan hava yolu enfeksiyonlarının tüm diğer olası nedenleri ekarte edildikten ve sekonder silyer bozukluklardan sorumlu enfeksiyonların uygun tedavisinden sonra kullanılmalıdır. Böylelikle yanlış PSD teşhisi ve yüksek maliyet önlenebilecektir.

Anahtar sözcükler: Silya, elektron mikroskopisi, silyer diskinezi, silyer oryantasyon

ABSTRACT

Electron microscopy in ciliary disorders

Primary ciliary dyskinesia (PCD) is composed of the diseases resulting from congenital defects of cilia. Diagnosis is reached on the basis of clinical history, abnormal ciliary beat frequency and specific axonemal defects observed by transmission electron microscopy. Electron microscopic assessment for the diagnosis of PCD comes into prominence in clinically and light microscopically undiagnosed cases. Microtubule defects, dynein arm deficiency and orientation disorders cannot be detected by light microscopy; electron microscopy is the method of choice in the diagnosis of such disorders. Ciliary orientation should be measured in patients having recurrent respiratory tract infections since disorientation can be the only defect in some patients. Ciliary disorders are classified as primary (congenital) and secondary (acquired) disorders. The latter are caused by environmental factors, such as infection, smoking and air pollution. The diagnosis of PCD may be difficult since the epithelial cell and ciliary defects can also be caused by acquired factors. Therefore, it is important to distinguish between primary and secondary structural and functional disorders. Electron microscopic analysis is the only option for diagnosing ultrastructural defects. Electron microscopic assessment in diagnosing PCD should be carried out only after excluding other probable causes of respiratory tract infections and after the appropriate treatment of infections responsible for secondary ciliary defects. In this manner, false-positive diagnosis of PCD and high cost can be prevented.

Key words: Cilia, electron microscopy, ciliary dyskinesia, ciliary orientation

GİRİŞ

Solunum yolları silyalı hücreler ve goblet hücreleri içeren epitel ile döşelidir. Bu iki hücre tipi mukosilyer taşımayı sağlar (1,2). Mukosilyer taşıma önemli bir savunma mekanizmasıdır ve silyer vuruş frekansı solunum yolu temizlenmesinde başlıca parametredir. Her bir silyum komşu silya ile

birlikte koordine bir şekilde, tek yönlü mukus akımını sağlayan vuruş gerçekleştirir (3). Silya yapı ve fonksiyonundaki bozukluklar hava yolu temizliğini bozar ve solunum yolu enfeksiyonlarına neden olabilir (4). Solunum yollarının silyalı hücrelerinin her birinde lümeni temizleyen yaklaşık 200 silya bulunur. Solunum yollarının sağlığını korumada önemli rolü olan bu hücreler hasarlanmaya açık

tır ve genetik mutasyondan etkilenir. Yakın zamanda silyalı hücrelerin bozukluklarının moleküler ve genetik temelini anlaşılmada ilerleme kaydedilmiştir. Hayvan çalışmaları sonucunda birçok hastalığın silyogenez ve silyalı hücre fonksiyonundaki bozukluklarla ilişkili olduğu anlaşılmıştır. Bu hastalıklardan biri de primer silyer diskinezidir (PSD) (5). PSD hastalarında yapılan incelemelerde dinein kolu bozuklukları, silyer yerleşim anomalileri ve silyer vuruş hareketinde farklılıklar gözlenmiştir. Silyer bozuklukların teşhisinde elektron mikroskopik inceleme önemli bir basamaktır.

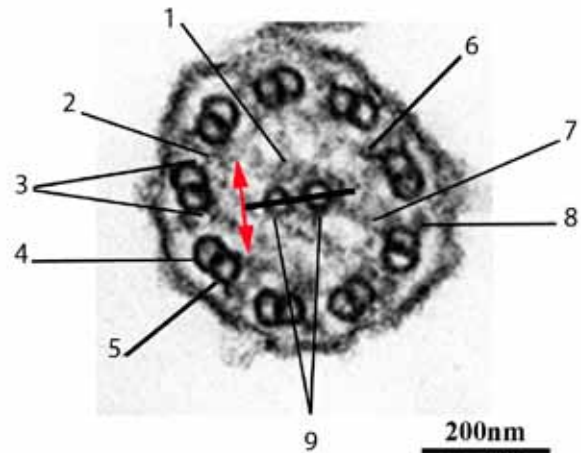
Silyumun Yapısı

“Silyum”, Latince’de “kirpik” anlamına gelen bir terimdir ve çoğul formu “silya”dır. Silya hayvanlarda, protozoada ve bazı bitkilerde bulunan ve spermatozoal flagella ile morfolojik benzerlik gösteren kompleks yapıda ökaryotik organellerdir. Silya, 360°’in üzerinde proteinden oluşmuş, ileri derecede özelleşmiş kompleks organellerdir (6). Respiratuar silya 6 µm uzunluğunda ve 200-250 nm çapındadır (7). Her bir silyum 2 merkezi mikrotübül etrafında dizilmiş 9 periferik mikrotübül çiftinden oluşan 9+2 aksonem yapısı gösterir (Resim 1) (8). Bu yapı hareketli silyada evrimsel olarak korunmuştur; ancak ince yapısal ayrıntılar, organizmalar arasında farklılıklar göstermektedir. Periferik çiftlerin her biri A ve B tübüllerinden meydana gelir (Resim 1) (8). A tübülünde 13, B tübülünde ise 11 protofilament bulunur. Protofilamentler alfa ve beta tübülün heterodimerlerinin birleşmesiyle oluşurlar. Merkezi mikrotübül çifti (C1 ve C2), 13 tübülün protofilamentinden oluşur ve yapısal ve biyokimyasal olarak asimetriktir. Merkezi mikrotübül çifti, komşu silyadaki merkezi çifte göre oryantasyon gösterir. Bu oryantasyon silyer hareketin koordinasyonunda önemlidir (9,10). Mikrotübülün merkezi çifti 23 özgül polipeptid içeren 13 protofilamentten oluşmakla birlikte, işlevsel ve biyokimyasal olarak dış mikrotübül çiftlerinden ayrılır (11).

Aksonem yapısı her biri farklı genler tarafından kodlanan yaklaşık 250 farklı protein içermektedir (9). Çok sayıdaki diğer genler ise silyanın birleşmesi ve düzenlenmesinden sorumludur. Bu nedenle primer silyer diskineziden (PSD) sorumlu olmaya aday genlerin sayısı yüksektir.

Aksonem içinde farklı bileşenleri birbirine bağlayan ve mikrotübül-ilişkili protein (microtubular-associated protein: MAP) adı verilen çoklu proteinler de bulunmaktadır (9,10). Radyal bağlantılar, neksin bağları, merkezi kılıf ve

dinein kolları bu proteinlerden bazılarıdır (Resim 1) (10). Periferik mikrotübül çiftleri komşu mikrotübül çiftlerine neksin bağlarıyla, merkezi mikrotübül çiftine ise radyal bağlantılar ile tutunur (7). Dinein silya içinde en fazla çalışılmış proteindir. Bu proteinin silya yapı ve fonksiyonunda çok önemli rolleri bulunmaktadır (9). Dinein, myozin ve kinezin içeren mekanokimyasal ATPazlar grubuna dahil yüksek moleküler ağırlıklı bir proteindir. Dinein bileşenleri, 9 periferik mikrotübül çiftinin A-tübülüne belirli aralıklarla bağlanır. Dinein kolları büyük, çoklu alt ünitelerden oluşan moleküler motorlardır ve farklı büyüklüklerdeki ağır, orta ve hafif zincir polipeptidlerinin birleşmesiyle oluşur (10). Her dinein kolu 2-3 ağır zincir, 2-4 orta zincir ve çok sayıda hafif zincir içermektedir (12). Ağır zincir molekülleri içinde bulunan ATPaz aktivitesi, mikrotübüller arasındaki kayma hareketi için enerji üretir ve bu da silyum vuruşu olarak sonuçlanır. Dinein kollarının moleküler motorlar olarak fonksiyon görebilme kapasiteleri, çok sayıda dinein bileşeninin bütünlüğünü gerektirir. Dinein kolları merkezi mikrotübülle olan ilişkilerine göre iç ya da dış dinein kolu olarak adlandırılır ve saat yönünde uzanır (Resim 1) (10,11). Dış dinein kolu daha uzundur ve kancaya benzer. İç dinein kolu daha kısadır, hafif kıvrımlıdır ve neksin bağına bağlıdır (13). İç dinein kollarının temel yapısı dış kollara benzerdir; ancak daha kompleks bir yapıya sahiptir (14). I1, I2 ve I3 olarak bilinen ve farklı dinein izoformlarını içeren 3 iç dinein kolu bulunmaktadır. I1 iç dinein kolu, dinein düzenleyici kompleks ve radyal bağlantılar ile etkileşim halindedir (9).



Resim 1: Silyum enine kesiti. 1: Merkezi kılıf, 2: neksin bağı, 3: periferik mikrotübül çifti, 4: mikrotübül B, 5: mikrotübül A, 6: iç dinein kolu, 7: radyal bağlantı, 8: dış dinein kolu, 9: merkezi mikrotübül çifti. Merkezi mikrotübül çiftinin ortasından geçen çizgi silyer eksenini, kırmızı çift yönlü ok silyumun hareket yönünü göstermektedir.

Chlamydomonas reinhardtii, aksonemal yapısı insan respiratuvar silyum ve sperm flagellumuna benzeyen ve suda ilerlemesini sağlayan 2 flagellaya sahip, fotosentez için kloroplastı bulunan, ökaryotik, tek hücreli bir yeşil algdir (15,16). *Chlamydomonas* mutantlarının analizlerinden elde edilen sonuçlar iç ve dış dinein kollarının fonksiyonel olarak farklı olduklarını ortaya koymuştur. Dış dinein kollarını etkileyen mutasyonlar silyer vuruş frekansında azalmaya neden olmaktadır. Buna karşılık, iç dinein kollarının bozuk olduğu mutantlarda normale yakın vuruş frekansı görülmekte, ancak yüzme amplitüdlerinde değişiklik gözlenmektedir (17). Bu mutantların bazıları PSD hastalarında gözlenen benzer ince-yapısal aksonemal bozukluklar gösterirler (18).

Merkezi tübüller hemen hemen tamamıyla merkezi kılıf ile kaplıdır ve aksonemin merkezi eksenini oluşturur (Resim 1) (13). Merkezi kompleks ve radyal bağlantılar düzenleyici sinyalleri dinein kollarına iletirler (10). Periferik çiftler birbirlerine silyumun kayma hareketini sınırlayan neksin bağlarıyla bağlıdır. Radyal bağlantılar her bir periferik çifti merkezi kılıfa bağlamaktadır (13). Radyal bağlantılar ve iç dinein kollarıyla ilişkili ve silyer vuruşu düzenleyen bir dinein düzenleyici kompleksin varlığı da tanımlanmıştır.

Mukus temizleyen silya 5-7 µm uzunluğunda ve 0.25 µm çapındadır. Daha küçük hava yollarında uzunluğu azalmaktadır (19). Aksonem uzunluğu boyunca 96 nm'lik bir tekrarlayan ünite mevcuttur. Bu ünite 24 nm aralıklarla birbirinin aynı 4 dış dinein kolu, 3 ya da 4 farklı iç dinein kolu, 29 nm aralıklarla 1 radyal bağlantı grubu, 14 nm aralıklarla 6 çift merkezi kılıf ve 86 nm'de bir tekrarlayan bir neksin bağı bulunmaktadır. Bu temel tekrarlayan ünitenin enine kesiti karakteristik geçirimsiz elektron mikroskopik görüntü verir (Resim 1) (8,9).

Silyalı hücrenin yüzeyinde silyer aksonem yapısı belli aralıklarla değişiklik gösterir. Önce dinein kolları, 150 nm sonra da merkezi mikrotübüller kaybolur. Bundan 200 nm sonra aksonem sitoplazmaya ulaşır. Periferik mikrotübül çiftine üçüncü bir C-mikrotübülü katılır (20) ve tüm diğer yapılar kaybolur (13). Bu değişikliklerin normal olduğu düşünüldüğünde, dinein kolları normal sayıda olan ancak merkezi tübüller olmayan ya da sadece 1 merkezi mikrotübülü bulunan silya enine kesitlerinin normal olmadığı düşünülmelidir (20). Her silyumun alt kısmında, silyumu hücre sitoplazmasının apikal kısmına bağlayan (13), sentrozomla ilişkili, merkezi mikrotübül çiftinin olmadığı ve periferde 9 mik-

rotübül üçlüsünün görüldüğü (7) bir bazal cisim (kinetozom) bulunur. Bazal cisim sitoplazmik mikrotübüllere bağlıdır (21) ve etkili vuruş yönünde oryantasyon gösteren bir ayak ve bir kökçük içerir (13). Tek bir hücredeki bazal ayaklar normalde yaklaşık aynı yönde dizildiklerinden, bir hücredeki tüm silyanın aynı ya da birbirine yakın oryantasyon göstermesi gerekmektedir (21). Silyumun en uç kısmında ise B alt ünitesi ve diğer yapılar bulunmaz; yalnızca tek, tam tübüller bulunur (Resim 2a) (13).

Silyogenez

Hava yollarındaki silyalı hücreler kanaliküler evrede trakeadaki farklanmamış hücrelerden köken alırlar. Silya, ya doğrudan luminal membrandan ya da dolaylı olarak bazal cisimlerin distal sonlarında yerleşmiş olan silyer veziküllerden oluşur. Akciğer gelişimi ilerledikçe silya önce büyük, daha sonra da küçük hava yollarında ortaya çıkar. Silyaya henüz sahip olmayan hücre, bilinmeyen sinyaller aracılığıyla silyogenez başlatır. Silyogenez için 250'nin üzerinde protein gerekmektedir (1). Memeli silyogenezinde 4 basamak tanımlanmaktadır: (a) sentriollerin duplikasyonu (sentriologenez), (b) sentriollerin apikal hücre yüzeyine bazal cisimleri oluşturmak üzere göç etmesi, (c) aksonem içeren silyanın uzaması, (d) bazal cismin aksesuar yapılarının oluşması (22). Yapılan hücre kültürü çalışmalarında, silyasını kaybetmiş insan nazal epitel hücrelerinin 1 hafta içerisinde yeniden silya oluşturdukları gözlenmiştir (23).

Silyogenez süresince önemli ve gerekli olan faktörler tam anlaşılacakla birlikte, bazı proteinlerle ilgili çalışmalar ve fikirler ortaya konmuştur. Örneğin, HFH-4 proteininin silyalı epitel hücrelerinde geç embriyodan yetişkin doku oluşumuna kadar eksprese edildiği ve geçici olarak, gelişmekte olan hava yollarının silyogenezini ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (24). Klasik motil ve 9+2 mikrotübül yapısına sahip epitel hücrelerinde HFH-4 ekspresyonu sınırlı iken, 9+0 yapısındaki silya içerenlerde ekspresyon görülmemektedir.

Mukosilyer Temizleme

Normal bir silyumun vuruş frekansı respiratuvar bronşiyolde 6-8 Hz, trakeada yaklaşık 22 Hz'dir (13). Silya trakeada 4-10 mm/dk hızında mukus taşıyıcı; insanda günlük mukus temizleme oranı 10-100 ml'dir (25). Silyumda bulunan

dinein kolu ATP'yi hidrolize ederken, radyal bağlantılar ve neksin bağları silyumun aşırı uzamasını önler. Silyer vuruş döngüsünün iki bileşeni vardır: Etkili vuruş ve geri dönme vuruşu. Geri dönme vuruşu sırasında silyum arkaya doğru, mukus hareketinin aksi yönünde kıvrılır ve daha sonra etkili vuruş fazında kamçıya benzer şekilde, mukus akımı yönünde öne doğru uzanmak ve hareket etmek için ilerler. Bu sistem normal vücut sıcaklığında ve respiratuvar nemlilikte en iyi şekilde çalışır. Sıcaklık ve nem oranındaki ciddi değişiklikler normal silyer vuruşu ve mukus temizlenmesini bozar. Silyadaki edinsel ve konjenital değişiklikler de fonksiyon bozulmasına neden olur. Dinein kolu yokluğu silyum atımı için gerekli enerjinin ATPaz yoluyla elde edilmesini engel-

lerken, neksin bağlarındaki anormallikler silyumun aşırı uzamasına ve etkisiz atım sekansına neden olur (13).

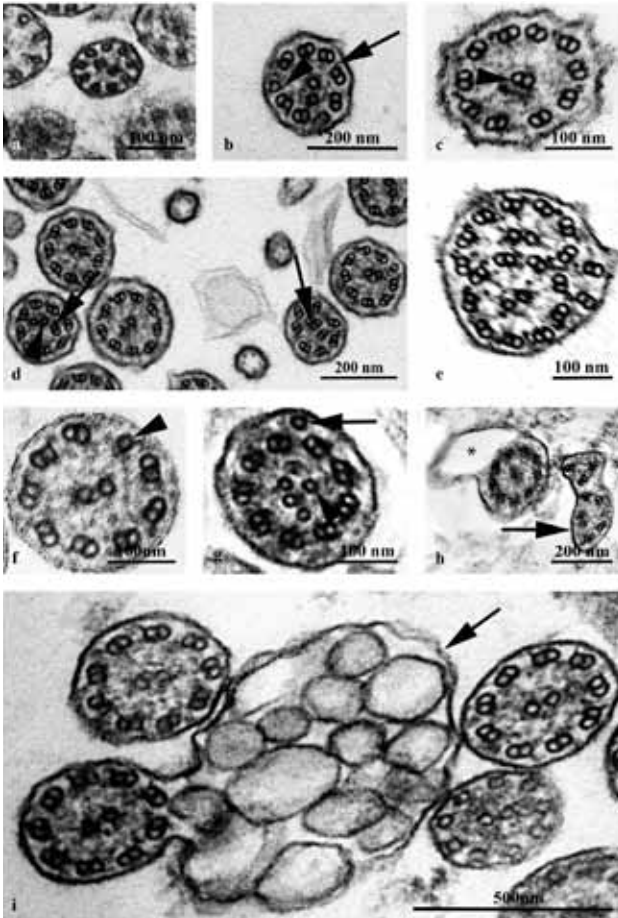
Embriyonal Nodal Silya: Sağ-Sol Asimetrisindeki Rolü

Yakın zamanda yapılan çalışmalarda silyanın embriyo-daki sağ-sol şekillenmesi için gerekli sinyal olaylarını başlatmada rol aldığı kanıtlanmıştır. Memelilerdeki embriyonal nodun ventral yüzeyi, saat yönünde hareket eden monosilya ile kaplıdır ve sola doğru akım (nodal akım) oluşturmaktadır. Embriyonal monosilyum 9+0 yapısına sahiptir. Nodal silyanın olmaması ya da hareketsiz olması durumunda nodal akım olmamaktadır. Nodal akım tarafından belirlenen sağ-sol asimetrisini açıklamak için iki hipotez ortaya atılmıştır. Bu hipotezlerden biri, bir ya da daha fazla bilinmeyen hücre dışı morfojenin embriyonun sol tarafına taşındığını ve asimetric olarak sinyal olaylarını başlattığını öne sürmektedir. İkinci hipotez ise nod içinde merkezi yerleşimli hareketli silyanın nodal akımı oluşturduğu ve nod periferindeki duysal silyanın bu akımı algılayıp sinyal olaylarını başlattığı yönündedir (10). İkinci hipotezi destekleyen çalışmalarda bir katyon kanalı olan polikistin-2'nin fonksiyon kaybının farede sağ-sol vücut asimetrisinin randomizasyonuna neden olduğu gösterilmiştir (26). Morfojen yokluğunda fare embriyolarında yapılan yapay nodal akım deneyleri, mekanik sıvı akımının sağ-sol asimetrisindeki rolü için kanıt sağlamıştır (27). Farelerde resesif kalıtım gösteren *iv* geni mutasyonu situs kontrolünde kayba neden olmakta, *iv/iv* farelerin %50'si *situs inversus* göstermektedir (28).

Nodal silyanın, nodal akışın yönünü değiştirerek partiküllerin nodun sağından soluna hareket etmesini sağladığı gösterilmiştir (29). Nodal akış aynı zamanda sağ-sol asimetrisini de belirleyen gelişimsel genlerin asimetric ekspresyonunda anahtar rol oynamaktadır. Bu durum, situs inversusun silyer bozukluklar ile ilişkisini açıklamaktadır (27).

Silya Bozuklukları: Primer ve Sekonder

Silyer bozukluklar primer (kalıtsal) ya da enfeksiyon, sigara ve hava kirliliği gibi çevresel faktörlerin neden olduğu sekonder (edinsel) bozukluklar olarak sınıflandırılmaktadır (9). İç ve/veya dış dinein kolu yokluğu ya da sayıca azalması (Resim 2b) (30), radyal bağlantı yokluğu, neksin bağlarında eksiklik (31), mikrotübül çifti transpozisyonu (Resim



Resim 2: a) Silyumun uç kısmından enine kesit. B alt ünitesi ve diğer yapılar bulunmamakta, yalnızca tek, tam tübüller görülmektedir. b) Dış ve iç dinein kolu eksikliği olan silyum. Ok: Kısa dış dinein kolu, ok başı: kısa iç dinein kolu. c) Periferik mikrotübül fazlalığı. Ok başı: Merkezi mikrotübül yokluğu nedeniyle oluşan periferik mikrotübül transpozisyonu. d) Merkezi (ok başı) ve periferik (ok) mikrotübül transpozisyonu. e) Bileşik silya. f) Periferik mikrotübül eksikliği (ok başı). g) Merkezi (ok başı) ve periferik (ok) mikrotübül fazlalığı. h) Membran vezikülasyonu bulunan (*) ve tamamen disorganize silya (ok). i) İçinde çok sayıda kistik yapı gösteren silyum zarı (ok).

Tablo 1: Dinein kolu bozukluğu belirlenmesinde kullanılan referans değerleri (Sirvanci ve ark., 2008).

Dinein Kolu Sayısı	Normal	Olası dinein kolu eksikliği	Dinein kolu eksikliği
Dış	6.6-9	4-6.5	0-3.9
İç	2.1-9	1.5-2.0	0-1.4

Tablo 2: Ortalama dış ve iç dinein kolu sayıları (Sirvanci ve ark., 2008). N: Normal sayıda iç ve dış dinein kolu olan grup, OE: olası dinein kolu eksikliği grubu, E: dinein kolu eksikliği grubu.

	N	OE	E
Dış Dinein Kolu			
Median	7,8	5,6	1,4
Range	1,6	2,2	3,4
Minimum	6,7	4,3	0,5
Maksimum	8,3	6,5	3,9
İç Dinein Kolu			
Median	3,5	2,1	0,8
Range	3,3	0,2	1,1
Minimum	2,2	1,9	0,2
Maksimum	5,5	2,1	1,3

2c, 2d) (32,33) ve silyer oryantasyon bozukluğu (34,35) primer ya da kalıtsal silyer bozukluklardır ve PSD sendromu nedenlerini oluştururlar (8). Buna karşılık bileşik silya (Resim 2e) (36), mikrotübül eksikliği (Resim 2f) ya da fazlalığı (Resim 2g) (31), aksonemde organizasyon bozukluğu (Resim 2h) , internalize edilmiş ya da atılmış aksonem (36), merkezi mikrotübül çifti yokluğu (Resim 2c), çok uzun silya (37), şişmiş silya (38), silyer aplazi ve silyum zarında vezikülleşme (Resim 2h) (39) spesifik olmayan ya da edinsel yapısal bozukluklar olarak tanımlanmışlardır (8). Edinsel silyer anomaliler genellikle eşlenmiş sentriollerdeki göç bozuklukları veya silyogenez boyunca meydana gelen silya gelişim sorunları ile ilişkilidir (40). Silyer aplaziyi primer bozukluklar grubuna dahil eden çalışmalar da bulunmaktadır (9). Bronşiektazi hastalarıyla yapılan bir çalışmada aksonem gövdesindeki 'kistbenzeri' yapıların primer silyer bozukluk olabileceği öne sürülmüştür (Resim 2i) (8,41). Primer bozuklukların çoğu sekonder değişiklikler olarak da gözlenebilir (10,34).

Primer silyer bozuklukların yaklaşık %80'ini total ya da parsiyel dinein kolu yokluğu, %10'unu merkezi tübül yokluğu ya da dislokasyonu, %6'sını radyal bağlantı bozuklukları ve %3'ünü periferik mikrotübül anormallikleri oluşturur (10). PSD farklı ince-yapısal bozukluklardan biri nedeniyle ortaya çıkabilmektedir (42). Dinein kolu eksiklikleri hemen hemen yalnızca PSD ile ilişkilidir (43). Merkezi kılıf yokluğu ve merkezi mikrotübül yokluğunda periferik mikrotübül çiftinin transpozisyonu (Resim 2c); radyal bağlantı yokluğu

(44), merkezi kılıf bozukluğu (32) ya da neksin bağı yokluğu (33) nedeniyle ortaya çıkabilmektedir. Yapılan çalışmalarda dinein kolu bozuklukları, olası dinein kolu eksikliği ve dinein kolu eksikliği şeklinde sınıflandırılarak incelenmiştir (20,45). Bu çalışmalardan birinde kullanılan dinein kolu sayısı referans değerleri Tablo 1'de, dinein kolu eksikliği bulunan ve bulunmayan gruplardaki ortalama dinein kolu sayıları Tablo 2'de verilmiştir (45).

Literatürde PSD hastalarında görülen ince yapısal bozukluk spektrumu şöyledir: %24-43 dış dinein kolu bozuklukları; %14-29 iç dinein kolu bozuklukları; %24-45 her iki dinein kolunda bozukluk; %4-18 merkezi yapı bozuklukları (3,46-48).

Sekonder Silyer Bozukluklar

Sekonder silyer ince-yapısal bozukluklar sıkça görülmektedir (49). Respiratuvar viral ve bakteriyel enfeksiyonlar, mukozanın fiziksel ve kimyasal hasarları, lokal uygulanan ilaçlar ve astım alevlenmeleri fokal ve geri dönüşümlü ince-yapısal silya bozukluklarına neden olabilmektedir (50-56). Bozukluk üst solunum yolu enfeksiyonunun ortadan kalkmasından 12 hafta sonrasına kadar görülmeye devam edebilir (57,58). Yanlış PSD teşhisinden kaçınmak için mukozal biyopsinin en az iki farklı bölgeden alınması gerekmektedir (59).

Sağlıklı bireylerin ve edinsel pulmoner hastalığı olanların silyasında başlıca mikrotübül bozukluklarını kapsayan sekonder silyer bozukluklar %10 oranında görülebilmektedir (60-62). Başka bir çalışmada ise sağlıklı çocuk ve genç erişkinlerde %5'ten daha az silyada mikrotübül bozukluk ve dinein kolu bozukluğu olduğu saptanmıştır (63).

Merkezi mikrotübül yokluğunda bir periferik çiftin bu yokluğu dengelemek için merkeze translokasyonu (transpozisyonu) (8+1) genellikle kalıtsal (primer) silya bozuklukları arasında kabul edilirken, bu bozukluğun edinsel de olabileceği (8,64,65) vurgulanmıştır. Az sayıda silyada gözlenen transpozisyon spesifik bir bulgu değildir; çoğunlukla enfeksiyona sekonder olarak ortaya çıkmaktadır. Bazı PSD hastalarında çok sayıda silyada transpozisyon görülebilmektedir (20).

Az sayıda eksik (Resim 2f) ve/veya fazla (Resim 2g) tübül/tübül çifti ve bileşik silya (Resim 2e) bozuklukları spesifik olmayan bozukluklardır (8). Bu bulgular sağlıklı kişilerde ve kronik solunum yolu enfeksiyonu olanlarda görülebilmek-

tedir. Ancak, mikrotübül transpozisyonu sıkça görüldüğünde, özellikle izleme çalışmalarında ya da çoklu bölgelerden doku örneği alındığında aynı sonuçla karşılaşılıyorsa, bu bulgular PSD'nin varlığına işaret eder (34).

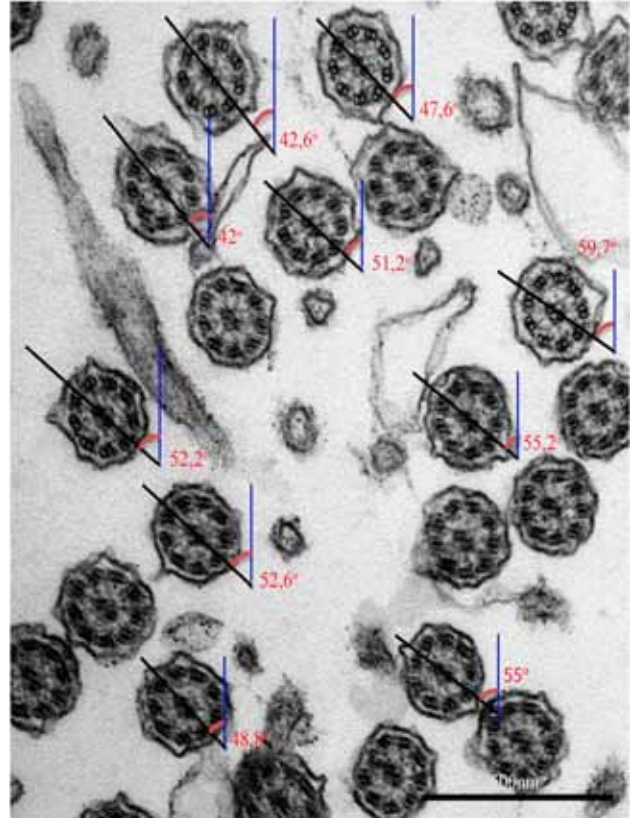
İdiyopatik bronşiektazi, tekrarlayan respiratuvar enfeksiyonlar ve pnömonide parsiyel dış dinein kolu eksiklikleri bildirilmiştir (Resim 2b) (8,58). Bronkopulmoner displazide dinein kollarının geçici kısalması (66) ve pulmoner tüberkülozda dinein kollarının parsiyel kaybı (68) gösterilmiştir. Kısa dinein kolu (Resim 2b) ince-yapısal olarak PSD'ye benzetmekle birlikte, bu bozukluğun daha çok enfeksiyona sekonder ortaya çıktığı düşünülmüştür (43). Diğer çalışmalarda solunum yolu enfeksiyonlarında dinein kollarındaki bozukluğun %30 oranında olduğu saptanmıştır (68).

Silyer Oryantasyon

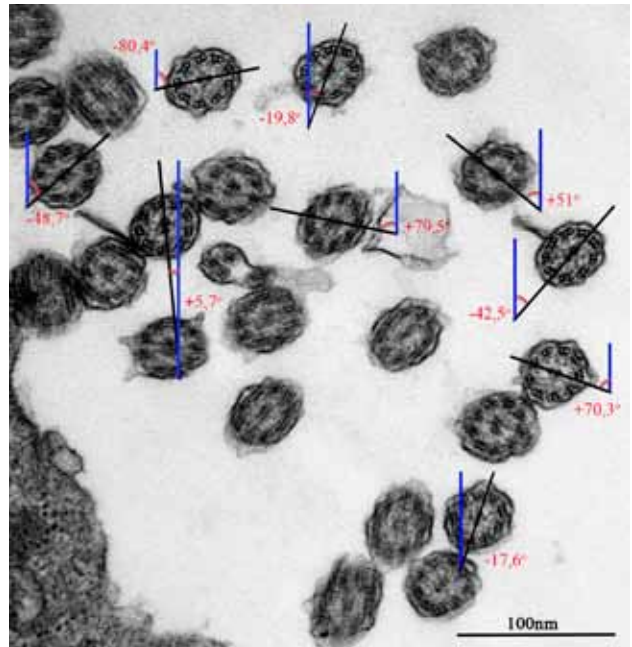
Merkezi mikrotübülün uzun ekseninden çizgi silyer eksen olarak bilinir. Silyer eksenini dik yönde kesen düzlem silyanın hareket yönünü gösterir (Resim 1) (8,69). Normalde silya bir yönde oryantasyon gösterir (Resim 3) ve üzerindeki mukusu farenkse doğru hareket ettirir (70). Silya birbirine göre oryantasyon göstermiyorsa, silyer vuruşta koordinasyon bozukluğu olur; bir silyum komşu silyumun vuruşunu engelleyebilir ve mukosilyer temizlenme büyük ölçüde bozulur. Silya oryantasyonu normal kişilerde farklılıklar göstermektedir. Ancak solunum yolu hastalığı olan bazı kişilerde oryantasyon daha da bozulmuştur (Resim 4) (8). Oryantasyon bozukluğunun primer ya da enfeksiyona sekonder olarak ortaya çıkabileceği bildirilmiştir. Bu bozukluğun sistemik, genetik olarak kalıtsal bir PSD varyantı olduğu öne sürülmüş, bu hastalardaki bozukluğun sekonder oryantasyon bozukluğundan daha ileri derecede olduğu saptanmıştır (21).

Uluslararası kabul edilen silyer oryantasyon açısı standart sapma derecesi $\leq 20^\circ$ dir. Silyer oryantasyonunun $>35^\circ$ olması "random oryantasyon"a işaret etmektedir (71). Başka bir çalışmada ortalama silyer sapma sağlıklı kişilerde 30° 'nin altında, tekrarlayan solunum yolu hastalıklarında 30° 'nin üzerinde bulunmuştur (72). Sağlıklı insanlarda oryantasyon değerinin $12-41^\circ$ arasında değiştiği de vurgulanmıştır (73).

Oryantasyon açıları ölçülürken merkezi mikrotübüllerin uzun eksenine paralel bir çizgi çizilir. Ölçümde kullanılacak ikinci çizgi ise fotoğrafın yatay eksenine dik olacak şekilde



Resim 3: Normal oryantasyon gösteren silya grubu. Silya eksenleri yaklaşık olarak birbirine paraleldir. Siyah çizgi: Silyer eksen, mavi çizgi: açı ölçümü için kullanılan referans çizgi. Oryantasyon açısı standart sapması: 5,58°.



Resim 4: Bozuk oryantasyon gösteren silya grubu. Sola dönük açılar (+), sağa dönük açılar (-) olarak ifade edilmiştir. Siyah çizgi: Silyer eksen, mavi çizgi: açı ölçümü için kullanılan referans çizgi. Oryantasyon açısı standart sapması: 55,9°.

çizilir. Bu iki çizginin üst kolları arasında kalan aç silyer oryantasyon değerini vermektedir (Resim 3, 4).

Silyer oryantasyon çalışmaları manuel ya da bilgisayar yardımıyla görüntü analiz sistemleri kullanılarak, merkezi mikrotübüller ya da bazal ayaklar çalışılarak yapılabilmektedir (74). Ölçümler sırasında dikkat edilmesi gereken nokta ölçüm yapılan silyanın tümünün aynı bitişik hücre grubuna ait olmasıdır; silya tek hücrelere ya da hücre parçalarına ait olmamalıdır. Böylelikle yüksek değerlerde artefakt ölçümler yapma olasılığı azaltılmış olur. Silyer oryantasyon bozukluğu bulunan hastalarda normal ya da normale yakın vuruş frekansı gözlenmektedir. Ancak bu hastalarda silyanın atım yönleri birbirlerine uygun olmadığından, mukosilyer temizlenmenin bozulmuş olması beklenir.

İnsanda silya oryantasyonunun embriyonik gelişiminin 24. haftasında olduğu bildirilmiştir (75). Mikrotübül ve mikrofilament ağından oluşan apikal hücre iskeleti, hücre sitoplazmasındaki silyumun bazal kısımlarının (bazal cisim ve bazal ayak) sıkıca tutulmasından sorumludur. Vuruş döngüsünün oluşumunda, apikal iskeletin gelişiminde ya da bu iki olayın koordinasyonundaki bozukluk silyada oryantasyon bozukluğuna neden olabilir.

Oryantasyon bozukluğu astım (76), soğuk algınlığı (60), kronik üst solunum yolu inflamasyonu (69) ve kronik bronşitte (77) de bildirilmiştir. Sekonder silyer oryantasyon bozukluğu düşünüldüğünde, oryantasyon ölçümü farklı bir zamanda ya da vücudun silya içeren farklı bir bölgesinden yapılmalıdır (78). Tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonu olan hastalarda silyer oryantasyon ölçümü yapılmalıdır; çünkü bazı hastalarda tek bozukluk bu olabilmektedir.

Primer Silya Bozuklukları: Genetik Faktörler

Birkaç olgu dışında genetik olarak PSD, çoğunlukla otozomal resesif geçişli bir bozukluktur (79). PSD fenotipik ve genetik olarak heterojen bir durumdur ve bazı genetik bozukluklar tanımlanmış durumdadır (80). Bu bozuklukla ilgili genetik araştırmalar, spesifik protein veya gen terapisi gibi tedavi yöntemleri üzerinde yoğunlaşmıştır. Bununla birlikte son zamanlardaki eğilimler, silya yapı ve işlevini, spesifik ince-yapısal bozukluklar ile fenotip arasındaki ilişkiyi anlayarak PSD hastaları için yeni tanısal yöntemler belirlemek üzerinedir (14).

Genetik mutasyonların belirlendiği tek ince-yapısal

fenotip, dış dinein kolu bozukluklarıdır. Belirlenen 3 mutasyondaki genler, insan kromozomunun 9p, 5p ve 7p bölgelerinde yerleşmiş DNAI5, DNAH5 ve DNAH11'dir (81-85). Bu genler dinein kolunun orta zinciri (DNAI1) ve ağır zincirinden (DNAH5, DNAH11) kodlanır (83).

Silya ve sağ-sol asimetrisi bozuklukları genetik ve klinik olarak heterojen bozukluklardır. Bunun nedeni bir bakıma, hastalıktan etkilenen ailelerin iyi tanımlandığı vakaların sayıca az oluşu, dinein genlerinin dev boyutlarda oluşu ve aksonemde bulunan farklı dineinlerin ve silya fonksiyonu için gereken diğer düzenleyici ve yapısal proteinlerin çok sayıda oluşudur. Dinein mutasyonları PSD'nin tek sebebi değildir (5).

Dinein genleri PSD ve Kartagener sendromunda önemli rol oynarlar. Olguların %50'den fazlasında silyadaki ince-yapısal bozukluklar dinein kompleksiyle ilişkilidir (86). Silya fonksiyon bozukluğu ve sağ-sol asimetrisini ilişkilendiren ilk deneysel çalışmalarda, randomize *situs inversus* olan farelerin embriyonik düğümündeki dinein ağır zincir geninde (sağ-sol dinein, Ird) spontan mutasyon olduğu saptanmıştır (87). Başka bir çalışmada heterotrimerik kinezin motor protein (KIF3) alt ünitesi eksikliği olan farelerde nodal silya yokluğu ve randomize situs olduğu bildirilmiştir. Daha sonraki çalışmalarda, PSD hastalarında aksonemal dış dinein kolu ağır zincirini kodlayan gende mutasyonlar (84) ve bu genin dış dinein kolu yokluğu ile ilişkili olduğu (88) saptanmıştır. Bununla birlikte, dinein orta zinciri 1 genindeki (DNAI1) mutasyonların da dış dinein kolu bozukluklarının görüldüğü PSD'ye neden olduğu belirtilmiştir (82,83,89). Aynı gendeki mutasyonların *situs inversus* neden olduğu da bildirilmiştir (86). Farelerde yapılan bir çalışmada, iç dinein kolunun bir bileşenini kodlayan fare dinein ağır zinciri 7 geni (MDHC7, insandaki homolog gen HDHC7 [DNAH11]) yokluğunun silyer vuruş hızında azalmayla sonuçlandığı bulunmuştur (12). İnsan hPF20 geninin ise merkezi kompleksteki bozukluklarla ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (90). PSD'li bir olguda dinein ağır zinciri 7 (DNAH7) bileşeninin sentezlendiği ancak aksonem ile birleşmediği belirtilmiştir. Bu olgudaki genetik bozukluğun DNAH7'nin dinein kollarına taşınmasında ya da kollarla birleşmesinde görevli proteinlerden kaynaklanabileceği öne sürülmüştür (91). Aksonemal ağır zincir dinein tip 11 (DNAH11) genindeki mutasyonlar da *situs inversus totalisten* sorumlu tutulmuştur (92).

Silyogenez için gerekli silyer bileşenleri kodlayan genle-

rin eksik olduğu mutant farelerle yapılan çalışmalar, bu genlerin önemini vurgulamaktadır. Örneğin, kinezin Kif3A- ve Kif3B- ve Polaris- (Tgt737) eksikliği olan farelerde nodal monosilya bulunmaz ve *situs inversus* görülür (93,94). Hfh4- eksikliği olan farelerde ise epitel hücre silyası bulunmamaktadır; ancak monosilyaya sahiptirler ve situs randomizedir (95). İnversin geninde mutasyonu olan *inv* faresinde nodal akım daha yavaştır ve randomizasyon yerine inversiyon görülmektedir (96). Sağ-sol şekillenmesinde rol oynayan *nodal*, *lefty*, *pitx2*, *sonic hedgehog* genleri ve diğerlerinin mutasyonu farede daha karmaşık ve daha ağır sağ-sol şekillenme bozukluklarına yol açmaktadır (11,97).

Yapılan çalışmalarda, aksonem hareketi için gerekli olan bir başka genin de NDK7 olduğu görülmüştür (98). NDK7 "knock out" farelerde *situs inversus* ve silyopati görülebilmektedir (99). Günümüzde proteomik analiz ile silyum gen haritasını çıkarmak mümkündür (100). Bu birinci nesil protein haritalandırması, tüm aksonemal bileşenleri içermekte, yalnızca PSD hastalarında olmayan aksonemal proteinleri tanımlamaktadır (91). Ancak bu metodu kısıtlayan 3 büyük nokta vardır: 1) Silyogenez için gerekli olan proteinler küçük miktarlarda bulunurlar ve bu nedenle tespit edilemeyebilirler; 2) tanımlanan protein içerikleri yapısaldır; 3) dinein gibi büyük proteinlerin izolasyonu 2D jel analizi ile mümkün olmamaktadır. İleride kütle spektrometresi tekniklerinin gelişmesi ile bu mümkün olabilecektir (14).

Primer Silyer Diskinezi (PSD) ve Elektron Mikroskopi

Situs inversus ve bronşiektazi ilk kez 1904'te Siewert tarafından tanımlanmıştır. 1933'te Kartagener 11 hastada sinüzit, bronşiektazi ve *situs inversus* saptamış ve tüm bu hastaları etkileyen ortak bir faktörün varlığını öne sürmüştür. Bu triad Kartagener sendromu olarak adlandırılmıştır (101).

Bozulmuş silya fonksiyonu ve yapısı ilk kez Afzelius ve ark. tarafından tekrarlayan solunum yolu hastalığı nedeni olarak bildirilmiştir. Kartagener sendromu olan hastalarda azalmış silyer motilite saptanmış ve 'immotil silya sendromu' terimi öne sürülmüştür (102). Daha sonraki silyer motilite ve ince-yapı çalışmalarında silyer motilitenin 'tamamıyla hareketsiz' silyadan 'normale yakın hareket'e kadar değişen bir yelpaze gösterdiği saptanmış ve sonuç olarak 'primer silyer diskinezi' terimi kullanılmaya başlanmıştır (103).

PSD silyanın konjenital bozuklukları sonucunda ortaya çıkan hastalıkları kapsamaktadır ve Kartagener sendromu, immotil silya sendromu, silyer dismotilite ve primer oryantasyon bozukluklarını içermektedir (9). PSD, insidansı yaklaşık 1/15,000-30,000 olan, kronik üst ve alt solunum yolu semptomlarıyla karakterize, genetik olarak heterojen (100) bir bozukluktur. Semptomlar neonatal dönemde başlar. Hastaların %50'sinde total *situs inversus*, %6'sında *situs ambiguous* izlenmektedir (104). Teşhis klinik öykü, anormal silyer vuruş frekansı ve geçirimli elektron mikroskobunda izlenen spesifik aksonem bozuklukları ile konulmaktadır (9,13,74). Çoğu olguda kalıtım otozomal resesif olmakla birlikte, otozomal dominant ve X-bağımlı kalıtım da bildirilmiştir.

Epitel hücre ve silya bozuklukları edinsel nedenlerden dolayı da ortaya çıkabileceğinden, PSD'nin teşhisi güç olabilmektedir (105). Bu nedenle primer ve sekonder yapısal ve fonksiyonel silya bozuklukları arasında ayırım yapmak önemlidir (63). Edinsel bozukluklarda ise üst ya da alt solunum yollarında fokal lezyonlar yaygındır ve daha ağır enfeksiyon gösteren bölgede daha fazla silya etkilenmektedir.

PSD hastalarında anormal ışık mikroskopik verilere ve tipik klinik fenotipe rağmen, normal silyer ince-yapı da bildirilmiştir (10,23). Bu da silyer motilite bozukluğunun elektron mikroskopik çalışmayla belirlenemeyen hücresel bozukluklarla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu nedenle ince-yapısal morfoloji tek ayırıcı diagnostik kriter olarak düşünülmemelidir (106,107). Bu hastaların bazılarında oryantasyon bozukluğu görülmektedir. Silyer aksonemin yaklaşık 250 farklı proteinden oluşması nedeniyle, PSD'nin heterojenitesinden sorumlu olmaya aday çok sayıda genin varlığı söz konusudur (108).

Elektron mikroskopik inceleme ileri derecede özelleşmiş bir teknik olup çok az merkezde uygulanmaktadır ve ince yapısal bozuklukları belirleyebilmek için uzmanlar gerektirir (108). Ayrıca bazı ince yapısal bozuklukların henüz tanımlanmamış olması da olasılık dahilindedir (7). İncelemeyi doğru yapabilmek için belirlenmesi daha zor olan iç dinein kolu (109) veya radyal bağlantılardaki bozuklukların teşhisinde bilgisayar destekli sistemlerin de kullanılması gerekebilmektedir (7).

Geçirimli elektron mikroskopi diagnostik testlerin gerekli bir kısmıdır; ancak yararları bazen sınırlıdır (32,102). Silyer vuruş frekansı analizi, silyer vuruş şekli analizi ve elektron mikroskopik analiz yapılmadan kullanıldığında

Tablo 3: Kartagener sendromlu hastalarda ortalama dinein kolu sayısı (Sirvanci ve ark., 2008). OE: Olası dinein kolu eksikliği grubu, E: dinein kolu eksikliği grubu.

Hasta No.	Yaş / Cinsiyet	Hasta Grubu	Situs inversus (s.i.)	Ortalama Dinein Kolu Sayısı (İç / Dış)
13	6 / K	OE	Dekstrokardi	3 / 4,5
26	10 / K	OE	Dekstrokardi	2,1 / 4,3
15	3 / E	E	Total s.i.	0,9 / 0,5
19	20 / K	E	Total s.i.	0,7 / 0,8
16	9 / E	E	Dekstrokardi	1,3 / 1,4
18	12 / K	E	Dekstrokardi	0,4 / 5,6

önemli ölçüde yanlış negatif sonuç elde edilecektir (110). Biyopsi örneklerinin tekrarlayan enfeksiyonlar nedeniyle değişikliğe uğraması silyanın elektron mikroskopik incelemesini güçleştirmektedir (85). Bununla birlikte, hücrelerin biyopsiden sonra ardışık tek katmanlı/süspansiyon sisteminde kültürü yapılmadığı sürece primer bozuklukları sekonder bozukluklardan ayırdetmek her zaman mümkün olmamaktadır (7, 111). PSD hastalarının silyasında gözlenen aksonemal bozukluklar, anormal bulunan tüm silyada birbirine uygun olmalıdır. Silyası çoklu, farklı aksonemal bozukluklar içeren hastalar büyük olasılıkla edinsel silya bozukluklarına sahiptirler (19).

Geçirimli elektron mikroskopide incelenecek kesit kalınlığı ortalama 100 nm ve aksonemin temel tekrarlayan ünitesi 96 nm'dir. Sonuç olarak, ince-yapısal bozuklukları sınıflandırmak için kullanılan elektron mikrografik resim, komşu tekrarlayan ünitelerin iç ve dış dinein kolları, radyal bağlantıları ve neksin bağlarının üst üste gelen karışımlarından oluşmaktadır (9). PSD hastalarında en sık gözlenen bozukluk dinein kolu bozuklukları olduğundan, iç ve dış dinein kolu sayımı teşhiste önemlidir (112). Son yıllarda genetik testlerdeki gelişmeler ile dış dinein kolu bileşenlerini kodlayan DNAH5 ve DNAI1 genleri de teşhis için taranmaktadır (113). Ancak PSD hastalarının yaklaşık %38'inde bu gen mutasyonları görülür (114). Yaklaşık %60'lık hasta grubu ise bilinmeyen genetik yapı temellidir (7).

PSD hastalarında atipik silya sağlıklı kontrollerde görülene oranla daha fazladır. Ancak bozukluklar tüm silyada görülmez. PSD hastalarında yapılan çalışmalarda, atipik silya oranı dinein eksikliği bulunanlarda %95, radyal bağlantı eksikliği olanlarda %73, transpozisyon saptananlarda

ise %31 olarak bildirilmiştir (115). Başka bir çalışmada ise sağlıklı kişilerde normal silya yapısı silyanın %50'sinden daha azında gözlenmiştir (116). PSD hastalarında dinein eksikliği silyanın yalnızca %30'unda görülmüş, diğer bozukluklar %15'den daha az silyada saptanmıştır. Kartagener sendromlu hastalarda dinein kolu büyük ölçüde azalmış olmasına rağmen, dinein kolunun tamamen yokluğu gözlenmemiştir (117). Kartagener sendromlu hastalardaki ortalama dinein kolu sayısı değerleri Tablo 3'te verilmiştir (45). Nazal biyopsilerin incelendiği elektron mikroskopik bir çalışmada dinein kolu eksikliği bulunan hasta grubunda atipik silya oranı %50 olarak bildirilmiş ve bu grupta transpozisyon defekti, eksiklik bulunmayan gruba kıyasla daha yüksek bulunmuştur (45). Bu bulgu da transpozisyon defektinin primer bir bozukluk olduğu görüşünü desteklemektedir.

Primer ve sekonder silyer bozukluklarda ince-yapısal bozukluk gösteren silya oranının üst ve alt solunum yollarında benzer olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, dinein kollarının normal olmadığı durumlarda nazal biyopsiden silyalı hücrelerin çalışılmasının yeterli olduğu, ancak merkezi kompleksin etkilendiği bozukluklarda bronşiyal silyanın çalışılmasının gerekliliği vurgulanmıştır. Nazal biyopsiden elektron mikroskopik teşhis klinik bilgi ile uyumlu olmadığına, diğer bölgelerden silya çalışması yapılmalıdır (64).

PSD teşhisinde kullanılan silyer vuruş frekansı ölçümü ve elektron mikroskopik analiz, yalnızca tekrarlayan hava yolu enfeksiyonlarının tüm diğer olası nedenleri ekarte edildikten ve sekonder silyer bozukluklardan sorumlu enfeksiyonların uygun tedavisinden sonra kullanılmalıdır. Böylelikle yanlış PSD teşhisi ve yüksek maliyet önenebilecektir (38).

KAYNAKLAR

1. Breeze R, Wheeldon EB. The cells of the pulmonary airways. *Am Rev Respir Dis.* 1977;116:705-777.
2. Sleight M. Ciliary function in transport of mucus. *Eur J Respir Dis.* 1983; 64(suppl.128): 287-292.
3. Tamalet A, Clement A, Roudot-Thoraval F, Desmarquest P, Roger G, Boulé M, Millepied MC, Baculard A, Escudier E. Abnormal central complex is a marker of severity in the presence of partial ciliary defect. *Pediatrics.* 2001;108(5):E86.
4. Rutland J, Cox T, Dewar A, Cole P. Screening for ciliary dyskinesia. A spectrum of defects of motility and structure. *Eur J Respir Dis.* 1983;64(suppl.127):71-77.
5. Brody SL. Genetic regulation of cilia assembly and the relationship to human disease. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2004;30:435-437.
6. Pazour GJ, Agrin N, Leszyk J, Witman GB. Proteomic analysis of a eukaryotic cilium. *J Cell Biol* 2005;170:103-113.
7. Hogg C. Primary ciliary dyskinesia: when to suspect the diagnosis and how to confirm it. *Paediatric Respiratory Reviews* 2009;10:44-50.
8. Şırvancı S, Karadağ B. Primer silyer diskinezi. Editörler: Elif Dağlı, Fazilet Karakoç. *Çocuk göğüs hastalıkları*, 1. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2007, sayfa: 247-252.
9. Meeks M, Bush A. Primary ciliary dyskinesia (PCD). *Pediatr Pulmonol.* 2000;29:307-316.
10. Ibañez-Tallon I, Heintz N, Orman H. To beat or not to beat: roles of cilia in development and disease. *Hum Mol Genet.* 2003;12(1):R27-35.
11. Porter ME, Sale WS. The 9+2 axoneme anchors multiple inner arm dyneins and a network of kinases and phosphatases that control motility. *J Cell Biol* 2000;151:F37-F42.
12. Neesen J, Kirschnner R, Ochs M, Schimiedl A, Habermann B, Mueller C, Holstein AF, Nuesslein T, Adham I, Engel W. Disruption of an inner arm dynein heavy chain gene results in asthenozoospermia and reduced ciliary beat frequency. *Hum Mol Genet.* 2001;10(11):1117-1128.
13. Schidlow DV. Primary ciliary dyskinesia (the immotile cilia syndrome). *Ann Allergy.* 1994;73:457-470.
14. Chodhari R, Mitchison HM, Meeks M. Cilia, primary ciliary dyskinesia and molecular genetics. *Paediatric Respiratory Reviews* 2004;5:69-76.
15. Blair DF, Dutcher SK. Flagella in prokaryotes and lower eukaryotes. *Curr Opin Genet Dev.* 1992;2:756-767.
16. Vallee R. Molecular analysis of the microtubule motor dynein. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1993;90:8769-8772.
17. Mitchell DR, Rosenbaum JL. A motile *Chlamydomonas* flagellar mutant that lacks outer dynein arms. *J Cell Biol.* 1985;100:1228-1234.
18. Pennarun G, Chapelin C, Escudier E, Bridoux AM, Dastot F, Cacheux V, Goossens M, Amselem S, Duriez B. The human dynein intermediate chain 2 gene (DNAI2): cloning, mapping, expression pattern, and evaluation as a candidate for primary ciliary dyskinesia. *Hum Genet.* 2000;107:642-649.
19. Rubin BK. Immotile cilia syndrome (primary ciliary dyskinesia) and inflammatory lung disease. *Clin Chest Med.* 1988;9(4):657-668.
20. Van der Baan S, Veerman AJP, Bezemer PD, Feenstra L. Primary ciliary dyskinesia: quantitative investigation of the ciliary ultrastructure with statistical analysis. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1987;96:264-272.
21. Rayner CFJ, Rutman A, Dewar A, Greenstone MA, Cole PJ, Wilson R. Ciliary disorientation alone as a cause of primary ciliary dyskinesia syndrome. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996;153:1123-1129.
22. Hagiwara H, Ohwada N, Aoki T, Takata K. Ciliogenesis and ciliary abnormalities. *Med Electron Microsc.* 2000;33:109-114.
23. Jorissen M, Willems T, De Boeck K. Diagnostic evaluation of mucociliary transport: from symptoms to coordinated ciliary activity after ciliogenesis in culture. *Am J Rhinol* 2000;14:345-352.
24. Blatt EN, XH Yan, MK Wuerffell, DL Hamilos and SL Brody. Forkhead transcription factor HFH-4 expression is temporally related to ciliogenesis. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 1999;21:168-176.
25. Wanner A. Mucociliary clearance in the trachea. *Clin Chest Med.* 1986;7:247-258.
26. Mochizuki T, Wu G, Hayashi T, Xenophontos SL, Veldhuisen B, Saris JJ, Reynolds DM, Cai Y, Gabow PA, Pierides A, Kimberling WJ, Breuning MH, Deltas CC, Peters DJ, Somlo S. PKD2, a gene for polycystic kidney disease that encodes an integral membrane protein. *Science.* 1996;272:1339-1342.
27. Nonaka S, Shiratori H, Saijoh Y, Hamada H. Determination of left-right patterning of the mouse embryo by artificial nodal flow. *Nature.* 2002;418:96-99.
28. Brueckner M, D'Eustachio P, Horwich AL. Linkage mapping of a mouse gene, *iv*, that controls left-right asymmetry of the heart and viscera. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1989;86:5035-5038.
29. Wright CV. Mechanisms of left-right asymmetry: what's right and what's left? *Dev Cell* 2001;1:179-186.
30. Pedersen H, Mygind N. Absence of axonemal arms in nasal mucosa cilia in Kartagener's syndrome. *Nature.* 1976;262:494-495.
31. Schneeberger EE, McCormack J, Issenberg HJ, Schuster SR, Gerald PS. Heterogeneity of ciliary morphology in the immotile cilia syndrome in man. *J Ultrastruct Res.* 1980;73:34-43.
32. Sturgess JM, Chao J, Turner JAP. Transposition of ciliary microtubules: another cause of impaired ciliary motility. *N Engl J Med.* 1980;303:318-322.
33. Moreau MF, Chretien MF, Dubin J, Rebel A, Malkani K. Transposed ciliary microtubules in Kartagener's syndrome: a case report with electron microscopy of bronchial and nasal brushings. *Acta Cytol.* 1985;29:248-253.
34. De longh RU, Rutland J. Ciliary defects in healthy subjects, bronchiectasis and primary ciliary dyskinesia. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;152:1559-1567.
35. Biggart E, Pritchard K, Wilson R, Bush A. Primary ciliary dyskinesia syndrome associated with abnormal ciliary orientation in infants. *Eur Respir J.* 2001;17:448-448.

36. McDowell EM, Barret LA, Harris CC, Trump BF. Abnormal cilia in human bronchial epithelium. *Arch Pathol Lab Med.* 1976;100:426-436.
37. Nigemann B, Müller A, Nolte A, Schonoy N, Wahn V. Abnormal length of cilia. A cause of primary ciliary dyskinesia: a case report. *Eur J Pediatr.* 1992;151:73-75.
38. Pifferi M, Cangiotti AM, Ragazzo V, Baldini G, Cinti S, Boner AL. Primary ciliary dyskinesia: diagnosis in children with inconclusive ultrastructural evaluation. *Pediatr Allergy Immunol.* 2001;12:274-282.
39. Polosukhin VV. Ultrastructure of the bronchial epithelium in chronic inflammation. *Ultrastruct Pathol.* 2001;25:119-128.
40. Hagiwara H. Electron microscopic studies of ciliogenesis and ciliary abnormalities in human oviduct epithelium. *Int J Anat Embryol.* 1995;100:451-459.
41. Tsang KWT, Tipoe G, Sun J, Ho JCM, Lam B, Zheng L, Ooi GC, Ip M, Lam WK. Severe bronchiectasis in patients with "cystlike" structures within the ciliary shafts. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;161:1300-1305.
42. Chilvers MA, Rutman A, O'Callaghan C. Primary ciliary dyskinesia: ciliary beat pattern is associated with specific ultrastructural defects. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;112:518-524.
43. Torkkeli T, Rautiainen M, Nuutinen J. Long-term follow-up of the clinical relevance of short outer dynein arms in human nasal cilia. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 1998;255:495-498.
44. Neustein HB, Nickerson B, O'Neal M. Kartagener's syndrome with absence of inner dynein arms of respiratory cilia. *Am Rev Respir Dis.* 1980;122:979-981.
45. Sirvanci S, Uyan ZS, Ercan F, Karadag B, Ersu R, Karakoc F, Dagli E, San T. Quantitative analysis of ciliary ultrastructure patients with primary ciliary dyskinesia. *Acta Histochemica* 2008;110: 34-41.
46. Noone PG, Leigh MW, Sannuti A et al. Primary ciliary dyskinesia: diagnostic and phenotypic features. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;169:459-467.
47. De longh RU, Rutland J. Ciliary defects in healthy subjects, bronchiectasis, and primary ciliary dyskinesia. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151:1559-1567.
48. Jorissen M, Willems T, Van der Schueren B, Verbeken E, De Boeck K. Ultrastructural expression of primary ciliary dyskinesia after ciliogenesis in culture. *Acta Otorhinolaryngol Belg* 2000;54: 343-356.
49. Boat TF, Carson JL. Ciliary dysmorphology and dysfunction: primary or acquired? *N Engl J Med.* 1990;323:1700-1702.
50. Wanner A, Salathe M, O'Riordan TG. Mucociliary clearance in the airways. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996;154:1868-1902.
51. Buchdahl RM, Reiser J, Ingram D, Rutman A, Cole PJ, Warner JO. Ciliary abnormalities in respiratory disease. *Arch Dis Child.* 1988;63:238-243.
52. Messina MS, O'Riordan TG, Smaldone GC. Changes in mucociliary clearance during acute exacerbations of asthma. *Am Rev Respir Dis.* 1991;143:993-997.
53. Kantar A, Oggiano N, Giorgi PL, Braga PC, Fiorini R. Polymorphonuclear leukocyte-generated oxygen metabolites decrease beat frequency of human respiratory cilia. *Lung.* 1994;172:215-222.
54. Shemer-Avni Y, Lieberman D. Chlamydia pneumoniae-induced ciliostasis in ciliated bronchial epithelial cells. *J Infect Dis.* 1995;171:1274-1278.
55. Fujihara K, Yamanaka N, Bernstein JM, Ogra PL, Hard R. Morphologic and motility changes of nasal cilia in primary culture caused by Haemophilus influenzae. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1996;105:452-457.
56. Tristram DA, Hicks W Jr, Hard R. Respiratory syncytial virus and human bronchial epithelium. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1998;124:777-783.
57. Giorgi PL, Oggiano N, Braga PC, Catassi C, Gabrielli O, Coppa GV, Kantar A. Cilia in children with recurrent upper respiratory tract infections: ultrastructural observations. *Pediatr Pulmonol.* 1992;14:201-205.
58. Corbeel L, Comillie F, Lauweryns J, Boel M, Van den Berghe G. Ultrastructural abnormalities of bronchial cilia in children with recurrent airway infections and bronchiectasis. *Arch Dis Child.* 1981;56:929-933.
59. Carson JL, Collier AM, Hu SS. Acquired ciliary defects in nasal epithelium of children with acute viral upper respiratory infections. *N Engl J Med.* 1985;312:463-468.
60. Wissemann C, Simel D, Spock A, Shelburne J. The prevalence of abnormal cilia in normal pediatric lungs. *Arch Pathol Lab Med.* 1981;105:552-555.
61. Smallman LA, Gregory J. Ultrastructural abnormalities of cilia in the human respiratory tract. *Hum Pathol.* 1986;17:848-855.
62. Afzelius B. Immotile cilia syndrome and ciliary abnormalities induced by infection and injury. *Am Rev Respir Dis.* 1981;124:107-109.
63. Chilvers MA, Rutman A, O'Callaghan C. Functional analysis of cilia and ciliated epithelial ultrastructure in healthy children and young adults. *Thorax.* 2003;58:333-338.
64. Harris GB, Bermejo JCR, Suarez MC. Different frequency of cilia with transposition in human nasal and bronchial mucosa. A case of acquired ciliary dyskinesia. *Virchows Arch.* 2000;437:325-330.
65. Smallman LA. Microtubular abnormalities of cilia in acquired pulmonary diseases. *Lancet.* 1984; 28:1(8383):965-966.
66. Lee RM, Rossman CM, O'Brodovich H, Forrest JB, Newhouse MT. Ciliary defects associated with the development of bronchopulmonary dysplasia. Ciliary motility and ultrastructure. *Am Rev Respir Dis.* 1984;129:190-193.
67. Ahonen A, Valavirta K. Ultrastructure of cilia in pulmonary tuberculosis. *Eur J Respir Dis.* 1983;64(suppl.128):460-463.
68. Ehouman A, Pinchon MC, Escudier E, ve ark. Ultrastructural abnormalities of respiratory cilia. Descriptive and quantitative study of respiratory mucosa in a series of 33 patients. *Virchows Arch B Cell Pathol Incl Mol Pathol.* 1985;48(1):87-95.
69. Rayner CFJ, Rutman A, Dewar A, Cole PJ, Wilson R. Ciliary disorientation in patients with chronic upper respiratory tract inflammation. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;151:800-804.
70. Sleight MA, Blake JR, Liron N. The propulsion of mucus by cilia. *Am Rev Respir Dis.* 1988;137:726-741.

71. Jorissen M, Willems T. The secondary nature of ciliary (dis)orientation in secondary and primary ciliary dyskinesia. *Acta Otolaryngol* 2004;124: 527-531.
72. Rautiainen MEP. Orientation of human respiratory cilia. *Eur Respir J*. 1988;1:257-261.
73. Rautiainen M, Collan Y, Nuutinen J. A method for measuring the orientation (beat direction) of respiratory cilia. *Arch Otorhinolaryngol*. 1986;243:265-268.
74. Nielsen MH, Pedersen M, Christensen B, Mygind N. Blind quantitative electron microscopy of cilia from patients with primary ciliary dyskinesia and from normal subjects. *Eur J Respir Dis*. 1983;64(suppl.127):19-30.
75. Gaillard DA, Lallement AV, Petit AF, Puchelle ES. In vivo ciliogenesis in human fetal tracheal epithelium. *Am J Anat*. 1989;185:415-428.
76. Laitinen LA, Heino M, Laitinen A, Kava T, Haahtela T. Damage of the airway epithelium and bronchial reactivity in patients with asthma. *Am Rev Respir Dis*. 1985;131:599-606.
77. Lungarella G, Fonzi L, Ermini G. Abnormalities of bronchial cilia in patients with chronic bronchitis. *Lung*. 1983;161:147-156.
78. Rutland J, Cox T, Dewar A, Cole P, Warner JO. Transitory ultrastructural abnormalities of cilia. *Br J Dis Chest*. 1982;76:185-188.
79. Rott HD. Genetics of Kartagener's Syndrome. *Eur J Respir Dis*. 1983;127:1-4.
80. Blouin J-L, Meeks M, Radhakrishna U et al. Primary ciliary dyskinesia: a genome-wide linkage analysis reveals extensive locus heterogeneity. *Eur J Hum Genet*. 2000;8:109-118.
81. Bartoloni L, Blouin JL, Pan Y, Gehrig C, Maiti AK, Scamuffa N, Rossier C, Jorissen M, Armengot M, Meeks M et al. Mutations in the DNAH11 (axonemal heavy chain dynein type 11) gene cause one form of situs inversus totalis and most likely primary ciliary dyskinesia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99(16):10282-10286.
82. Pennarun G, Escudier E, Chapelin C et al. Loss-of-function mutations in a human gene related to *Chlamydomonas reinhardtii* dynein IC78 result in primary ciliary dyskinesia. *Am J Hum Genet*. 1999;65:1508-1519.
83. Zariwala M, Noone PG, Sannuti A et al. Germline mutations in an intermediate chain dynein cause primary ciliary dyskinesia. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2001;25:577-583.
84. Olbrich H, Häffner K, Kispert A et al. Mutations in DNAH5 cause primary ciliary dyskinesia and randomization of left-right asymmetry. *Nat Genet*. 2002;30:143-144.
85. Guichard C, Harricane MC, Lafitte JJ et al. Axonemal dynein intermediate-chain gene (DNAI1) mutations result in situs inversus and primary ciliary dyskinesia (Kartagener syndrome). *Am J Hum Genet* 2001; 68:1030-1035.
86. Bartoloni L, Blouin JL, Maiti AK, Sainsbury A, Rossier C, Gehrig C, She JX, Marron MP, Lander ES, Meeks M, Chung E, Armengot M, Jorissen M, Scott HS, Delozier-Blanchet CD, Gardiner RM, Antonarakis SE. Axonemal beta heavy chain dynein DNAH9: cDNA sequence, genomic structure, and investigation of its role in primary ciliary dyskinesia. *Genomics*. 2001;72:21-33.
87. Supp DM, Witte DP, Potter S, Brueckner M. Mutation of an axonemal dynein affects left-right asymmetry in inversus viscerum mice. *Nature*. 1997;389:963-966.
88. Omran H, Häffner K, Völkel A, Kuehr J, Ketelsen UP, Ross UH, Konietzko N, Wienker T, Brandis M, Hildebrandt F. Homozygosity mapping of a gene locus for primary ciliary dyskinesia on chromosome 5p and identification of the heavy chain DNAH5 as a candidate gene. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2000;23:696-702.
89. Noone PG, Zariwala M, Sannuti A, Minnix S, Leigh MW, Carson JL, Knowles MR. Mutations in DNAI1 (IC78) cause primary ciliary dyskinesia. *Chest*. 2002;121(suppl.3):97S.
90. Pennarun G, Bridoux AM, Escudier E, Dastot-Le Moal F, Cacheux V, Amselem S, Duriez B. Isolation and expression of the human hPF20 gene orthologous to *Chlamydomonas pf20*. Evaluation as a candidate for axonemal defects of respiratory cilia and sperm flagella. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2002;26:362-370.
91. Zhang YJ, O'Neal WK, Randell SH, Blackburn K, Moyer MB, Boucher RC, Ostrowski LE. Identification of dynein heavy chain 7 as an inner arm component of human cilia that is synthesized but not assembled in a case of primary ciliary dyskinesia. *J Biol Chem*. 2002;277(20):17906-17915.
92. Bartoloni L, Blouin JL, Pan Y, Gehrig C, Maiti AK, Scamuffa N, Rossier C, Jorissen M, Armengot M, Meeks M, Mitchison HM, Chung EMK, Delozier-Blanchet CD, Craigen WJ, Antonarakis SE. Mutations in the DNAH11 (axonemal heavy chain dynein type 11) gene cause one form of situs inversus totalis and most likely primary ciliary dyskinesia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99(16):10282-10286.
93. Marszałek JR, Luiz-Lozano P, Roberts E, Chien KR, Goldstein LS. Situs inversus and embryonic ciliary morphogenesis defects in mouse mutants lacking the KIF3A subunit of kinesin-II. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999;96:5043-5048.
94. Murcia NS, Richards WG, Yoder BK, Mucenski ML, Dunlap JR, Woychik RP. The Oak ridge Polycystic Kidney (ork) disease gene is required for left-right axis determination. *Development*. 2000;127:2347-2355.
95. Chen J, Knowles HJ, Hebert JL, Hackett BP. Mutation of the mouse hepatocyte nuclear factor/forkhead homologue 4 gene results in an absence of cilia and random left-right asymmetry. *J Clin Invest*. 1998;102:1077-1082.
96. Morgan D, Turnpenny L, Goodship J, dai W, Majumder K, Matthews L, Gardner A, Schuster G, Vien L, Harrison W, ve ark. Inversin, a novel gene in the vertebrate left-right axis pathway, is partially deleted in the inv mouse. *Nat Genet*. 1998;20:149-156.
97. Capdevila J, Vogan KJ, Tabin CJ, Izpisua Belmonte JC. Mechanisms of left-right determination in vertebrates. *Cell*. 2000;101:9-21.
98. Ikeda T. NDP Kinase 7 is a conserved microtubule binding proyein potentially expressed in ciliated cells. *Cell Structure and Function* 2010;35:23-30.
99. Vogel P, Read R, Hansen GM, Freay LC, Zambrowicz BP, Sanz AT. Situs inversus in *Dped/Poll* ^{-/-}, *Nme7* ^{-/-} and *Pkd 111* ^{-/-} mice. *Vet Pathol*. 2010;47:120-131.
100. Ostrowski LE, Blackburn K, Radde KM, Moyer MB, Schlatter DM, Moseley A et al. A proteomic analysis of human cilia: identification of novel components. *Mol Cell Proteomics* 2002;1:451-465.

101. Toledo MF, Adde FV. Primary ciliary dyskinesia in children. *J Pediatr (Rio J)*. 2000;76(1):9-16.
102. Eliasson R, Mossberg B, Camner P, Afzelius BA. The immotile-cilia syndrome: a congenital ciliary abnormality as an etiologic factor in chronic airway infections and male sterility. *N Engl J Med*. 1977;297:1-6.
103. Sleight MA. Primary ciliary dyskinesia. *Lancet*. 1981;2:476.
104. Kennedy MP, Omran H, Leigh MW, et al. Congenital heart disease and other heterotaxic defects in a large cohort of patients with primary ciliary dyskinesia. *Circulation* 2007; 115:2814-2821.
105. Jorissen M, Willems T, Van der Schueren B, Verbeken E. Secondary ciliary dyskinesia is absent after ciliary genesis in culture. *Acta Otorhinolaryngol Belg*. 2000;54:333-342.
106. Herzon FS, Murphy S. Normal ciliary ultrastructure in children with Kartagener's syndrome. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1980;89:81-83.
107. Greenstone MA, Dewar A, Cole PJ. Ciliary dyskinesia with normal ultrastructure. *Thorax*. 1983;38:875-876.
108. Rutland J, Dewar A, Cox T, Cole P. Nasal brushing for the study of ciliary ultrastructure. *J Clin Pathol*. 1982;35:357-359.
109. Escudier E, Couprie M, Duriez B et al. Computer-assisted analysis helps detect inner arm abnormalities. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002;166:1257-1262.
110. Bush A, O'Callaghan C. Primary ciliary dyskinesia. *Arch Dis Child*. 2002;363-365.
111. Jorissen M, Willems T. Success rates of respiratory epithelial cell culture techniques with ciliogenesis for diagnosing primary ciliary dyskinesia. *Acta Otorhinolaryngol Belg*. 2000;54:357-365.
112. Robson AM, Smallman LA, Gregory J, Drake-Lee AB. Ciliary ultrastructure in nasal brushings. *Cytopathology*. 1993;4:149-159.
113. Fliegauf M, Olbrich H, Horvath J. Mislocalization of DNAH5 and DNAH9 in respiratory cells from patients with primary ciliary dyskinesia. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:1343-1349.
114. Zariwala MA, Knowles MR, Omran H. Genetic defects in ciliary structure and function. *Annu Rev Physiol* 2007;69:423-450.
115. Rossman CM, Lee RMKW, Forrest JB, Newhouse MT. Nasal cilia in normal man, primary ciliary dyskinesia and other respiratory diseases: analysis of motility and ultrastructure. *Eur J Respir Dis*. 1983;64(suppl.127):64-70.
116. Ehouman A, Pinchon MC, Escudier E, Bernaudin JF. Ultrastructural abnormalities of respiratory cilia. Descriptive and quantitative study of respiratory mucosa in a series of 33 patients. *Virchows Arch (Cell Biol)*. 1985;48:87-95.
117. Konrádová V, Vavrová V, Hlousková Z, Copova M, Tománek A, Houstek J. Ultrastructure of bronchial epithelium in children with chronic or recurrent respiratory diseases. *Eur J Respir Dis*. 1982;63:516-525.