T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

KOAH HASTALARINDA SEROTONİN İLE TİP-2 SİTOKİNLERİN VE OKSİDATİF STRES BELİRTEÇLERİNİN GENETİK VE BİYOKİMYASAL AÇIDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

UZM. DR. ERŞAN YURTSEVEN

Tez Danışmanı
DOÇ. DR. M. HİLAL ŞEHİTOĞLU

ÇANAKKALE – 2023

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

KOAH HASTALARINDA SEROTONİN İLE TİP-2 SİTOKİNLERİN VE OKSİDATİF STRES BELİRTEÇLERİNİN GENETİK VE BİYOKİMYASAL AÇIDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

UZM. DR. ERŞAN YURTSEVEN

Tez Danışmanı
DOÇ. DR. HİLAL ŞEHİTOĞLU

Bu çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu tarafından desteklenmiştir.
Proje No: TYL-2021-3397

ÇANAKKALE – 2023

ETİK BEYAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kuralları'na uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında; tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi taahhüt ve beyan ederim.

Erşan YURTSEVEN

22/08/2023

TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleştirilmesinde, çalışmam boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen saygı değer danışman hocam Doç. Dr. Hilal ŞEHİTOĞLU'na ve tezimi gerçekleştirebilmem için TYL-2021-3397 kodlu proje ile destekleyen Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonuna ve hayatımın her evresinde bana destek olan sevgili annem Ümmet CEYLAN, biricik kardeşim Buket YURTSEVEN, değerli arkadaşım Kaan ALİEFENDİOĞLU ve sevimli dostumuz Hera'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Erşan YURTSEVEN

İstanbul, Ağustos 2023

ÖZET

KOAH HASTALARINDA SEROTONİN İLE TİP-2 SİTOKİNLERİN VE OKSİDATİF STRES BELİRTEÇLERİNİN GENETİK VE BİYOKİMYASAL AÇIDAN DEĞERLENDİRİLMESİ

Erşan YURTSEVEN
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi
Danışman: Doç. Dr. Hilal ŞEHİTOĞLU
22/08/2023, 101

KOAH irreversibl havayolu obstrüksiyonu ile ilerleyen bir hastalıktır. Hastalığın oluşumunda genetik ve çevresel faktörler etkilidir. Serotonin ve IL-13 pulmoner fonksiyonlarda ve oksidatif streste kritik rol oynar. Ayrıca IL-4 ve IL-13'ün havayolu hiperreaktivitesinde işlevi olduğu gösterilmiştir. Bu inflamatuar belirteçlerin KOAH patogenezindeki rolleri henüz kesinleştirilememiştir.

Prospektif, vaka kontrol olarak tasarlanan çalışmaya 82 hasta dahil edilmiştir. Hastalardan toplanan venöz kan örneklerinden genetik ve biyokimyasal analizler yapılmıştır. Genetik analizler için PCR kullanılarak IL-4 ve IL-13 ekspresyonu; biyokimyasal analizler için ELISA kiti kullanarak serum serotonin, katalaz, superoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, malondialdehit ve 8-hidroksi-2-deoksiguanozin konsantrasyonları tayin edilmiştir. Hastalarla yapılan görüşmelerle hastaların medikal geçmişleri (sigara alışkanlıkları, kronik hastalıklar vb.) öğrenilmiştir.

Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, KOAH hastalarında Serotonin, IL-4, 8-OHdG, MDA değerleri kontrol grubuna göre yüksek çıkarken SOD ve GPx düşük seviyede olduğu saptanmıştır. Parametrelerin birbirleri ile olan ilgisi incelendiğinde; serotonin ile IL-4, 8-OHdG ve MDA değişkenleri arasında pozitif yönde; SOD ve GPx değişkenleri arasında negatif yönde korelasyon olduğu gösterilmiştir.

Araştırmamızın bulguları genel olarak literatürle paralellik göstermekte olup serotonin, tip-2 sitokinler ve antioksidan savunma sisteminin daha kapsamlı değerlendirmesi KOAH gelişimi, ilerlemesi ve tedaviye yanıt belirteçleri olarak yararlı bilgiler sağlayacaktır.

Anahtar Kelimeler: KOAH, Serotonin, IL-4, IL-13, Oksidatif Stres

ABSTRACT

BIOCHEMICAL and GENETIC EVALUATION of SEROTONIN, TYPE-2 CYTOKINES, and OXIDATIVE STRESS MARKERS in COPD PATIENTS

Erşan YURTSEVEN

Çanakkale Onsekiz Mart University

School of Graduate Studies

Master of Science Thesis in Medical Biochemistry

Advisor: Doç. Dr. Hilal ŞEHİTOĞLU

22/08/2023, 101

COPD is a progressive disease with irreversible airway obstruction. Genetic and environmental factors are effective in the development of the disease. Serotonin and IL-13 play critical roles in pulmonary function and oxidative stress. IL-4 and IL-13 have also been shown to function in airway hyperreactivity. The role of these inflammatory markers in the pathogenesis of COPD has not yet been established.

In this prospective, case-control study, 82 patients were enrolled. Genetic and biochemical analyses were performed on venous blood samples collected from the patients. For genetic analysis, IL-4 and IL-13 expression was determined using PCR; for biochemical analysis, serum serotonin, catalase, superoxide dismutase, glutathione peroxidase, malondialdehyde, and 8-hydroxy-2-deoxyguanosine concentrations were determined using ELISA kit. The medical history of the patients (smoking habits, chronic diseases, etc.) was obtained through interviews with the patients.

According to the results, serotonin, IL-4, 8-OHdG, 8-OHdG, and MDA values were higher in COPD patients than in the control group, while SOD and GPx were at low levels. When the relationship between the parameters was analyzed, it was shown that there was a positive correlation between serotonin and IL-4, 8-OHdG, and MDA variables and a negative correlation between SOD and GPx variables.

The findings of our study are generally in line with the literature, and a more comprehensive evaluation of serotonin, type-2 cytokines, and antioxidant defense systems will provide useful information as markers of COPD development, progression, and response to treatment.

Keywords: COPD, Serotonin, IL-4, IL-13, Oxidative Stress

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ETİK BEYAN ……..…… i

TEŞEKKÜR……. ii

ÖZET ……..…….…….. iii

ABSTRACT …….. v

İÇİNDEKİLER ……..…… vii

SİMGELER ve KISALTMALAR ……. xi

TABLOLAR DİZİNİ…….…. xii

BİRİNCİ BÖLÜM 3
GİRİŞ

1.1 KOAH Nedenleri …… 3

1.1.1 Genetik KOAH (KOAH-G) …… 3

1.1.2 Anormal Akciğer Gelişimine Bağlı KOAH (KOAH-D) …… 3

1.1.3 Çevresel etmenlerle gelişen KOAH …… 4

Sigara Kullanımına Sekonder KOAH (KOAH-C) ……. 4

Biyokütle ve Kirliliğe Maruz Kalma KOAH (KOAH-P) …….. 5

Enfeksiyonlara Bağlı KOAH (KOAH-I) …… 5

KOAH ve Astım (KOAH-A) …….. 6

Nedeni Bilinmeyen KOAH (KOAH-U) ……. 6

Karışık Nedenlerin KOAH'ı (KOAH-M) …… 7

GETomics …… 7

1.2 Revize Edilmiş KOAH Tanısının Süreci ……. 9

1.3 KOAH Tanı Kriterleri …….. 10

1.4 Erken KOAH …… 11

1.5 Hafif KOAH …….. 11

1.6 Genç Hastalarda KOAH …… 12

1.7 Pre-KOAH …….. 12

1.8 Revize KOAH …… 12

İKİNCİ BÖLÜM 14

KURAMSAL ÇERÇEVE/ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1 KOAH Immünopatolojisi …… 14

2.1.1 KOAH Hastalarının Alt Solunum Yollarının Duvarındaki Inflamatuar Hücreler ……. 14

Stabil Hastalarda T Lenfositler ve KOAH Immünopatolojisi …….. 15

Th/Tc1, Th2/Tc2, Th17 ve γδ T Hücreleri Lenfosit Alt Kümeleri ve KOAH Immünopatolojisi ……. 16

KOAH Immünopatolojisinde T Düzenleyici Lenfositler …….. 19

KOAH Hastalarında B Lenfositler, Lenfoid Foliküller ve Otoimmünite ……. 20

KOAH Hastalarında Nötrofil Granülositleri ……. 21

KOAH Immünopatolojisinde Mukus Salgılayan Epitel Hücreleri ve Intraluminal Mukus …….. 23

Nöronlar, Nöromediatörler/Nörotransmitterler, Nöroendokrin Sinir, Nöropeptitler, Nörojenik Inflamasyon ve KOAH Immünopatolojisi .. 24

KOAH Immünopatolojisinde Alt Solunum Yollarının Endotel Hücreleri …….. 25

2.1.2 KOAH'ta Pulmoner Hipertansiyon ……. 27

2.1.3 İlaçların KOAH Immünopatolojisine Etkisi ……. 27

2.1.4 KOAH Alevlenmelerinin Immünopatolojisi ……. 27

2.1.5 KOAH Immunopatolojisinde Triptofan Rolü ……. 29

2.2 Oksidatif Stresin Pulmoner Etkileri …… 30

2.2.1 Oksidatif Stres Mekanizması …….. 31

2.2.2 ROS Enflamasyonu ve Otofaji/Mitofaji Süreçleri …….. 34

2.2.3 KOAH'ta Oksidatif Stres 36
2.2.4 Hava Yollarında Çevre Kirliliği ve OS 40
2.2.5 Hava Yolu Hastalıklarında Yeni Farmakolojik Yaklaşımlar: Antioksidanlar 43

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM
ARAŞTIRMA YÖNTEMİ/MATERYAL YÖNTEM 51

3.1 Biyokimyasal Analizler 51
3.1.1 Serotonin ELISA 51
3.1.2 Glutatyon Peroksidaz Tayini 52
3.1.3 Superoksit Dismutaz Tayini 53
3.1.4 Kolorimetrik Lipit Peroksidasyon Tayini 53
3.2 Genetik Analizler 54
3.2.1 Total RNA İzolasyonu 55
3.2.2 cDNA Eldesi 55
3.2.3 Primer Dizileri 56
3.2.4 Real-Time PCR (qRT-PCR) Uygulaması 57
3.3 İstatistiksel Analiz 58
3.4 İstatistiksel Yöntem 59

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM
ARAŞTIRMA BULGULARI 61

BEŞİNCİ BÖLÜM
SONUÇ ve ÖNERİLER 71

KAYNAKÇA 79
EKLER I
EK 1. ETİK KURUL ONAYI I

EK 2. HASTA ANKETİ…….. II

SİMGELER VE KISALTMALAR

KOAH	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
GOLD	Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease
BT	Bilgisayarlı Tomografi
PRISM	Korunmuş Oran- Bozulmuş Spirometri
PAH	Pulmoner Arteryel Hipertansiyon
FEV1	Bir Saniyedeki Zorlu Ekspiratuar Hacim
FVC	Zorlu Vital Kapasite
TLC	Total Akciğer Kapasitesi
DLCO	Karbon Monoksit Difüzyon Kapasitesi
IL	Interlökin
OS	Oksidatif Stres
AEC	Solunum Yolları Epitel Hücreleri
DC	Dendritik Hücreler
ACh	Asetilkolin
EBC	Ekshale Nefes Havası
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
SOD	Süperoksit Dismutaz (SOD)
CAT	Katalaz
GPx	Glutatyon Peroksidaz
NAC	N-asetil Sistein
SSRI	Selektif Serotonin Geri Alım İnhibitörü
SNRI	Serotonin ve Nörepinefrin Geri Alım İnhibitörü
TCA	Trisiklik Antidepresan
MAO	Monoamin Oksidaz

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo No	Tablo Adı	Sayfa No
Tablo 1	KOAH Geliştirme Riski Yüksek Olan Kişileri (Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı [pre-KOAH] öncesi) ve Hastalığı Doğrulanmış (KOAH) Olanları Belirlemeye Yönelik Tanı Kriterlerinin Operasyonel Tanımlayıcıları ve Eşik Değerleri	10
Tablo 2	cDNA Sentez Protokolü	55
Tablo 3	PCR Koşulları	56
Tablo 4	Ekspresyon Seviyeleri Bakılan Genlere Ait Primer Dizileri	57
Tablo 5	Real Time PCR Malzeme Miktarları	57
Tablo 6	qRT-PCR Sentez Basamak Ayarları	58
Tablo 7	Katılımcıların Yaş ve Fiziksel Özellikleri ile Sigara Kullanımı, Komorbidite, İlaç kullanımı, KOAH Şiddeti ve Dispne Derecelerinin Tanımlayıcı Özellikleri	62
Tablo 8	Tüm Katılımcıların Araştırma Dahilinde Kullanılan Biyobelirteçlerinin Ortalama ve Ortanca Değerleri	63
Tablo 9	Hasta ve Kontrol Gruplarının Cinsiyet, Fiziksel Özellikler, Sigara Kullanım Durumu, Komorbidite ve Biyobelirteç Seviyelerinin Karşılaştırılması	65
Tablo 10	Sigara İçme Öyküsüne Göre Hastaların Biyobelirteçlerinin Ortanca Değerlerinin Karşılaştırılması	66
Tablo 11	Dispne Derecesine Göre Hastaların Biyobelirteçlerinin Ortanca Değerlerinin Karşılaştırılması	67
Tablo 12	KOAH Şiddetine Göre Hastaların Biyobelirteçlerinin Ortanca Değerlerinin Karşılaştırılması	68
Tablo 13	Katılımcılara Ait Sürekli Değişkenler Arasındaki Spearmen Korelasyon Analizi	69

BİRİNCİ BÖLÜM
GİRİŞ

Tarihsel açıdan bakıldığında KOAH'ın (Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı) kronik bronşit ve amfizem olmak üzere iki ayrı alt fenotipe ayrılmıştır. Ancak amfizem patolojik tanımlamayı yansıtırken, kronik bronşit daha çok klinik bir tanımlamada bulunur. Hem kronik bronşit hem de amfizem hava akımı kısıtlamasında etkili olabilir. Kronik bronşit; akciğer tüberkülozu, bronşektazi, akciğer absesi gibi nedenler olmaksızın birbirini izleyen en az iki yıl boyunca, yılda en az üç ay devam eden öksürük ve balgam çıkarma yakınmalarının varlığı olarak tanımlanır. Amfizem ise, terminal bronşiollerin distalindeki hava yollarının belirgin fibrozis olmaksızın destrüksiyonu ile birlikte anormal ve kalıcı genişlemesidir (National Institute of Health, 2008; Başyiğit, 2010). Geçtiğimiz yıllarda bu fenotipler temel alınarak, kronik bronşiti daha baskın görülen hastalar mavi-şişman (blue-bloater), amfizemi daha baskın olan hastalar ise pembe-üfleyen (pink-puffer) olarak sınıflandırılmaktaydı. Ancak KOAH'lı hastaların çok az bir kısmında bu ayrım kesin olarak yapılabilir olduğundan, ve pek çok hastada her iki tip de değişik oranlarda bulunabileceğinden bu ayrım artık kullanılmamaktadır (TTD, 2021).

Günümüze gelindiğinde yenilenen GOLD (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease) rehberine göre KOAH; "Genellikle zararlı partiküllere veya gazlara önemli ölçüde maruz kalmanın neden olduğu ve anormal akciğer gelişimi dahil olmak üzere konak faktörlerinden etkilenen hava yolu ve/veya alveolar anormalliklere bağlı kalıcı solunum semptomları ve hava akımı kısıtlaması ile karakterize yaygın, önlenebilir ve tedavi edilebilir bir hastalıktır" şeklinde tanımlanmıştır. Önemli komorbiditelerin morbidite ve mortalite üzerinde etkisi olabilir (B. Celli, vd., 2022). KOAH'ın patogenezi ve tedavisi üzerine on yıllardır süren araştırmalara ve çeşitli yararlı farmakolojik ve terapötik müdahalelerin geliştirilmesine ve uygulanmasına rağmen, tıp camiası KOAH'ın morbiditesini ve mortalitesini koroner arter hastalığı, inme ve bazı maligniteler gibi diğer önemli bulaşıcı olmayan hastalıklarda elde edilen dereceye kadar

azaltmada başarısız olmuştur (Murray, C. J., 2013). KOAH'ın; hava yolları, pulmoner vasküler yapılar ve akciğer parankimi üzerindeki heterojen etkileri ile karmaşık doğası ve akut alevlenmelerin dinamik etkisi dahil olmak üzere birçok faktör bu yetersiz başarısızlığı açıklayabilir. Bununla birlikte, mevcut KOAH'ın tanımındaki ve taksonomisindeki sınırlılık; hava akımı kısıtlaması belirgin hale gelmeden önce bozukluğu erken evrelerinde tanımlayamamaktadır. Ayrıca, KOAH, hastalığı tek bir hastalık olarak tanımlar. Aslında KOAH'ın tek bir hastalık olarak etiketlenmesi, KOAH'ın yalnızca bir ana nedeninin (sigara içimi) patogenetik mekanizmalarını inceleme çabalarına yönlendirdi ve nihai klinik prezentasyona katkıda bulunan süreçlerin heterojenliği hakkındaki ufku genişletmede başarısız oldu.

Son yıllara gelindiğinde araştırmacılar yeni verileri göz önünde bulundurarak, bu karmaşık hastalığın anlaşılmasındaki KOAH'ın mevcut tanım ve taksonomisinde güncellemelere gittiler. Örnek olarak, normal spirometri ile BT tanılı amfizemi olan bir kişinin KOAH olup olmadığı ve daha da önemlisi, bu kişinin nasıl tedavi edilmesi gerektiği konusunda tartışmalar vardır. Aynı şey semptomları olan ve kötü sonuç alma riski yüksek korunmuş oran bozulmuş spirometrisi (PRISM) olan bireyler için de söylenebilir (Fortis, vd., 2020; Wan, vd., 2018). Düşük FVC/TLC oranına sahip PRISM'li bireylerde KOAH gelişme riski yüksektir (Fortis, vd., 2020). Üçüncüsü, genel popülasyon çalışmaları, semptomların (öksürük ve balgam), kalıcı hava akımı kısıtlaması geliştirme riski yüksek olan orta yaşlı hastaları tanımlayabildiğini göstermiştir (Allinson, vd., 2016). Son olarak, hamilelik sırasında ve çocukluk ve ergenlik döneminde meydana gelen olaylar, akciğer gelişimini derinden etkileyebilir ve zaman içinde akciğer fonksiyonunda zorunlu hızlı bir düşüş olmadan (önceden KOAH'ta önemli olduğuna inanılan bir özellik) hava akımı sınırlamasıyla sonuçlanabilir (F. D. Martinez, 2016). Bu değerlendirmelere rağmen, günümüzde yaygın olan düşünce, KOAH'ın sigara içmenin neden olduğu tek bir hastalık olduğu yönündedir. Farmakolojik araştırmalar ve diğer girişimsel çalışmaların çoğu, belirgin bir sigara içme öyküsü olan KOAH'lı yaşlı hastalardan (60-70 yaş) oluşan dar bir segment üzerinde odaklanmıştır. Güncellenmiş bir KOAH tanımı ve taksonomisi, tüm

yaşam süresi boyunca hastalık gidişatını önleyebilen ve değiştirebilen dönüştürücü tedavilerin geliştirilmesini teşvik etmelidir (B. Celli, vd., 2022).

1.1. KOAH Nedenleri

Dünyanın bazı bölgelerinde birçok KOAH olgusunun sigara içme öyküsü yoktur (Halpin, vd., 2019; Townend, vd., 2017). Bu nedenle, güncellenmiş bir taksonomi, doğal seyrini daha iyi incelemek ve sonuçları iyileştirmek için spesifik tedavilerin geliştirilmesini sağlamak için KOAH'ın nedenlerini tanımalı ve tanımlamalıdır. Yine diğer alanlardan ders alan American Diabetic Association, diyabeti etiyolojisine göre otoimmüniteden kistik fibrozis veya pankreatit gibi spesifik nedenlere kadar değişen dört tipe ayırmaktadır. Şimdiye kadar tanımlanmış olan farklı KOAH nedenlerini kabul ederek, aşağıdaki gibi potansiyel bir alt sınıflandırma düşünülebilir (B. Celli, vd., 2022).

1.1.1. Genetik KOAH (KOAH-G)

Tek bir gen kusurlu serpin family A üye 1 (SERPINA1) ile amfizem gelişimi arasındaki nedensel ilişki 1965'te kurulmuştur. Bu özel KOAH tipi (alfa-1 antitripsin eksikliği) karakteristik olarak daha genç bireyleri, özellikle sigara içenleri etkiler ve öncelikle alt lob amfizemi ile kendini gösterir. Klinik olarak bronşektazi, astım veya siroz ile ilişkili olabilir. Daha da önemlisi, yetersiz teşhis edilmektedir ve spesifik büyütme terapisi ile tedavi edilebilir, böylece kendi alt gruplandırmasını haklı çıkarır (Chapman, vd., 2018). Diğer genetik anormallikler de kronik hava akımı kısıtlılığı ve buna bağlı multimorbidite geliştirme riskini artırır. Birçok genetik lokus varyantının varlığı, bu genlerin KOAH gelişimindeki olası önemini düşündürmektedir. KOAH'ın genetik temelinin daha iyi anlaşılması, yeni hedefe yönelik tedavilerin sınıflandırılmasına ve nihayetinde geliştirilmesine yardımcı olabilir (B. Celli, vd., 2022; DeMo, vd., 2007).

1.1.2. Anormal Akciğer Gelişimine Bağlı KOAH (KOAH-D)

Akciğerler doğumda tam olarak gelişmemiştir. Bebeklik ve ergenlik döneminde büyür ve olgunlaşırlar, kadınlarda 16-18 yaşları arasında ve erkeklerde 20-25 yaşları arasında en yüksek akciğer fonksiyonuna ulaşırlar (Maurer, 2010). Birçok çevresel maruziyet (ör. pasif sigara içimi veya biyolojik atıklardan kaynaklanan iç mekân kirliliğine maruz kalma), tekrarlanan enfeksiyonlar, yetersiz beslenme ve genetik faktörler; rahimde, bebeklik döneminde ve ergenlik döneminde akciğer büyümesini değiştirebilir ve yaşamın ilerleyen dönemlerinde KOAH'a katkıda bulunabilir (F. D. Martinez, 2016). Aslında, mevcut KOAH tanı kriterlerini karşılayan yetişkin hastaların sadece yaklaşık yarısı, erken erişkinlik döneminde normal zirve akciğer fonksiyonundan başlayarak yaşla birlikte artan bir düşüş oranı ile karakterize edilen bir akciğer fonksiyonu azalma yörüngesini takip ederken, geri kalanı daha düşük bir akciğer fonksiyonu zirvesi ile başlar. Erken yetişkinlikte ve geç yetişkinlikte akciğer fonksiyonunda azalma başlangıcı olmadan KOAH tanısı alırlar (Lange, vd., 2015). Çocukluk döneminde astıma atfedilen vakaların, akciğer gelişim sorunları olan bir çocuğun bir tür solunum semptomları (örneğin efor dispnesi, öksürük, wheezing gibi) bir çocuk doktoruna götürülürse astım teşhisi konulabilir ve tedavi edilebilir (Agustí & Celli, 2017).

1.1.3. Çevresel etmenlerle gelişen KOAH

Sigara Kullanımına Sekonder KOAH (KOAH-C)

Bu en iyi çalışılan KOAH tipidir. Önemli miktarda araştırma, KOAH'ı sigara yanmasının solunan ürünlerine anormal bir inflamatuar yanıtla ilişkilendirir. Bununla birlikte, sigara içenlerin çoğu, sigara inhalasyonuna iltihaplanma ile yanıt verir, ancak hepsinde hava akımı kısıtlaması gelişmez, bu da diğer mekanizmaların sorumlu olabileceğini düşündürür (Agustí ve Hogg, 2019; Barnes, 2003; Hogg ve Timens, 2009). Bu mekanizmalar şunları içerir:

1) proteazlar ve antiproteazlar arasında bir dengesizlik;

2) bir dereceye kadar otoimmünite ve akciğer yıkımı ile sonuçlanan anormal bir immünolojik reaksiyon;

3) kontrolsüz otofaji, gelişmiş apoptoz ve/veya hızlanmış akciğer yaşlanması süreci (Kasahara, vd., 2000).

Biyokütle ve Kirliliğe Maruz Kalma KOAH (KOAH-P)

Biyokütle maruziyeti, dünyanın belirli bölgelerinde, özellikle kadınlarda önemli bir KOAH nedenidir. Ayrıntılı araştırmalar, bunun farklı ve spesifik bir KOAH tipini temsil ettiğini ileri sürerek, bu hastalarda sigaraya bağlı KOAH'lı hastalara göre daha az amfizem ve daha fazla hava yolu tutulumu olduğunu ve ayrıca akciğer fonksiyonlarında daha yavaş düşüş olduğunu göstermektedir (Ramírez-Venegas, vd., 2014). Açık alevli biyokütle yakmanın havalandırmalı pişirme fırınlarıyla değiştirilmesini uygulayan bazı çalışmalardan elde edilen veriler, KOAH prevalansında ve semptomlarında bir azalma olduğunu göstermiştir (Perez, vd., 2020) ve hava temizleyicilerin semptomları iyileştirdiği görülmektedir. Bununla birlikte, bu popülasyonda herhangi bir spesifik tedavinin tek bir randomize denemesi yapılmamıştır (Hansel, vd., 2021).

Enfeksiyonlara Bağlı KOAH (KOAH-I)

Dünyanın dört bir yanındaki klinisyenler, sigara içmeyen kişilerde önceki akciğer enfeksiyonları nedeniyle kalıcı hava akımı kısıtlaması görmektedir. Bebeklik döneminde Solunum Sinsityal Virüsü ve diğer virüslere (Baraldi, vd., 2020) veya bir tüberküloza bağlı enfeksiyonlar görülebilir. Enfeksiyöz süreçler ile hava akımı sınırlaması arasındaki etkileşim tam olarak tanımlanmamıştır, ancak bunun nedeni fibrozis, hava yolu ve parankimal distorsiyona yol açan anormal onarım süreçleri olabilir. Bu tip KOAH'ın terapötik etkilerini ele alan çok az çalışma vardır. Bununla birlikte son araştırmalar,

postenfeksiyöz komplikasyonların potansiyel bir sonucu olarak; KOAH'lı hastalarda bronşektazi varlığının kötü bir prognoza işaret ettiğini göstermiştir ve bu durum, özellikle bu tip KOAH'ın araştırılması ihtiyacını desteklemektedir. Batı ülkelerinde, yüksek düzeyde aktif antiretroviral tedavinin ortaya çıkmasıyla HIV ile enfekte hastalar 50'li yaşlarında ve sonrasında yaşadıklarından, KOAH bu popülasyonda, özellikle sigara içenler arasında oldukça yaygın hale gelmiştir (Martińez-García, vd., 2013).

KOAH ve Astım (KOAH-A)

Astımın KOAH oluşumuna ne ölçüde katkıda bulunduğu çok tartışıldı (Peter, 2006), ancak ciddi, kontrolsüz astımı olan hastalarda diğer çevresel risk faktörleri olmaksızın kronik hava akımı kısıtlaması geliştirebileceği kabul edildi (Senhorini, vd., 2013). Astımı olan bazı hastalarda, ayrıntılı fizyolojik ve patolojik çalışmalar, akciğer elastik geri tepmesinde değişen derecelerde kayıp ve amfizem olduğunu göstermektedir (Christenson, vd., 2015). Astım ve KOAH'ın örtüşmesi son zamanlarda ilgi ve tartışma konusu olmuştur. Son olarak, yukarıda tartışıldığı gibi, anormal akciğer gelişimi olan (artık yetişkinlerde KOAH'ın bilinen bir nedeni olan) çocuklar yanlışlıkla astımlı olarak etiketlenebilir. Potansiyel terapötik etkinliklerini araştırmak için KOAH-A'lı popülasyonlarda seçilmiş şiddetli astım vakalarında etkili olan biyolojiklerle gelecekteki çalışmalar yürütülmektedir (Busse, 2017).

Nedeni Bilinmeyen KOAH (KOAH-U)

Epidemiyolojik çalışmalar, idiyopatik olarak nitelendirilen KOAH'lı yetişkinlerde hiçbir risk faktörünün önemli ölçüde tanımlanamayacağını gözlemlemiştir. Avusturya'da yapılan geniş bir gözlemsel çalışma göstermiştir ki düşük akciğer fonksiyonu ile ilişkili; yaşa göre farklılık gösteren, ancak yaşam boyu etkileşime giren ve biriken birçok risk faktörü vardır (Breyer-Kohansal, vd., 2020). Bu nedenle, KOAH-U, bir ömür boyu normal

akciğer fonksiyonunu etkileyebilecek bu faktörlerin (cinsiyet, mesleki maruziyet, eğitim, disanaptik akciğer büyümesi, epigenetik fenomen ve yoksulluk) birkaçının etkileşiminin sonucu olabilir. KOAH-U üzerinde yeterince çalışılmamıştır ancak yukarıda bahsedilenlerden daha iyi bir prognoza sahip olabilir (Bolton, vd., 2012).

Karışık Nedenlerin KOAH'ı (KOAH-M)

Son olarak, bazı hastalarda yukarıda belirtilen nedensel faktörlerden birkaçı olabilir. Bu vakalar, potansiyel tedavileri daha iyi değerlendirmek için klinik ifadeleri, baskın patobiyolojik mekanizmaları ve doğal seyri ile ilgili ayrıntılı çalışmalardan faydalanacaktır.

GETomics

Tüm yukarıdaki tanımlamalar bir arada düşünüldüğünde KOAH'ı daha iyi anlamayı amaçlamak için son zamanlarda "GETomics" kavramı öne çıkmıştır. Buradaki "GET"; ebeveynlerinden miras alınan genomun (G) ve bunun çevreyle (E) zaman içindeki etkileşiminin (T) araştırılmasını ifade ederken ;"omics" belirli bir biyomolekül tipinin tüm tamamlayıcısının veya bir organizma içindeki bir moleküler sürecin bütünlüğünün araştırılmasıyla tanımlanan çeşitli biyolojik çalışmalara göndermede bulunur. Daha bütüncül anlatmak gerekirse KOAH patogenezinin tam bir resmini elde etmek için genler (G) ile çevre (E) arasındaki etkileşimlerin zaman (T) içinde kapsamlı bir şekilde araştırılmasıdır. Bu amaca ulaşmak için de temel "omic" ve klinik "omic" yaklaşımlardan gelen bilgileri yaşam süresi boyunca maruziyetlerle (exposome) birleştiren bir yaklaşımı önerilmektedir. Bu stratejiye de GETomiks denilmektedir (Agustí, vd., 2022; B. Celli, vd., 2022).

Özellikle bazı nedenlerin bir arada bulunabilmesi (örn. prematürite, enfeksiyon ve sigara içme) ve hastaların seyrini ve tedaviye yanıtlarını etkileyebilmesi nedeniyle; klinikte

veya araştırma amacıyla KOAH'ın farklı nedenleri hastaların değerlendirilmesinde dikkate alınmalıdır.

Her bir KOAH tipi için tasarlanmış araştırmaların yapılmasına ihtiyaç vardır. Sebep(ler) ne olursa olsun, hastalık bir noktada başlayacaktır. Neden ya da nedenler ne olursa olsun, hastalık bir noktada başlayacaktır. Muhtemelen hasta klinik olarak sessiz bir dönemden geçecek ve bunu özellikle öksürük balgam ve efor dispnesi gibi semptomların geldiği bir dönem izleyecektir. Araştırmalarda hasta için hava akımı sınırlamasında spirometrik kanıtın olmadığı klinik olarak sessiz bir dönemdeyken Akciğer BT'sinde yapısal anormallik (McAllister, vd., 2014); ve/veya hızlı akciğer fonksiyonu düşüşü veya akciğerlerin karbon monoksit için düşük difüzyon kapasitesi, PRISM gibi fonksiyonel değişiklikler saptanabilmektedir. Ancak önemli bir durum vardır ki bu kişiler artık sağlıklı olmadığından ve nihayetinde değişken bir oranda (%10 ila %25 arasında) hava akımı kısıtlamasına sahip olacaktır. KOAH öncesi aşamada bu hastalar; hastalığı geciktirmeye veya daha iyisi tersine çevirmeye çalışılacak hedeflenebilir bir grubu temsil etmektedir. Bazı bireylerde, ilk klinik temasta hava akımı kısıtlılığına ilişkin spirometrik kanıtlar zaten mevcuttur, bu durumda KOAH tanısı ister genç (<50 yaş) ister daha büyük (>51 yaş) yaşta olsun bellidir (Sanchez-Salcedo, vd., 2014).

1.2. Revize Edilmiş KOAH Tanısının Süreci

KOAH'ın farklı nedenleri ve patobiyolojik mekanizmaları olsa da kanıtların gösterdiği gibi, bazen aynı bireyde bir çok neden bir arada bulunur ve tüm bunlar etkileşim içinde bulunabilir, ancak GOLD tanımının belirttiği gibi, hepsi sonunda hava akımı sınırlaması olan akciğer anormallikleriyle sonuçlanır. Bu durum literatürde bir çok sağlık profesyonelinin aklına KOAH'ın bir sendrom mu yoksa bir hastalık mı olarak kabul edilmesi gerektiği sorusunu gündeme getirmektedir (Beasley, vd., 2009). Aslında, belirli bir klinik antite (yani fibromiyalji) ile ilişkili, tutarlı bir şekilde tanınabilir bir semptom ve bulgu paterni olduğunda bir sendromdan söz edilebilir (Scadding, 1996). Ancak sadece

klinik-tanımlayıcı terimlerle tanımlanan bir nozolojik antitenin sözel kullanımlarda net olarak ifade edebilmesi ve bu terimin tutarlı bir şekilde uygulanması şartıyla; sendrom veya hastalık olarak adlandırılması aslında önemli değildir (Scadding, 1988). KOAH'ın nominalistik açıdan operasyonel, yapısal ve fonksiyonel iyi bilinen ve kabul edilmiş tanı kriterleri ve terminolojisi olduğundan; önerilen tüm bunların nedenlerini de kapsayacak etiketlemelerin devam etmesi şeklindedir. Ayrıca KOAH'a neden olabilecek daha fazla mekanizmalarının ve farklı klinik dizilerin keşifleri de dahil edilerek, KOAH'ın etiketlenmesi önerilmektedir. Bununla birlikte, pratik olmak ve mevcut kısaltmanın avantajlarını ve faydalarını tanımak önemlidir. KOAH şu anda dünyadaki başlıca sağlık kuruluşları tarafından tanınmaktadır ve Uluslararası Hastalık Kodlaması dahil olmak üzere tıp literatüründe kabul görmektedir (B. Celli, vd., 2022). Yeni bir kısaltma üzerinde anlaşmak, uzun zaman alacak bir yola yeniden başlamak ve takip etme çabası olacaktır. KOAH terimini korumak ve revize etmek; KOAH'ın anlamını hastalıkla ilgili genişleyen bilgileri içerecek şekilde ayarlanmasında ve hastaların daha iyi yönetilebilmesinde daha ulaşılabilir hale getirerek fayda sağlayacaktır.

KOAH tanımlanmasında güncellenmiş bir tanım faydalı ve gerekli olabilir, çünkü klinisyenler için akademik ve KOAH için teşhis edilen spirometrik eşiğe ulaşmamış ve kronik hava akımı kısıtlılığı olan ve muhtemelen artmış riskleri olan hastalar için klinik ufku anormal yapısal veya fonksiyonel akciğer anormallikleri olan hastaları içerecek şekilde genişletir. Aslında, mevcut tanımı "Diyabet, insülin sekresyonundaki, insülin etkisindeki veya her ikisindeki bozukluklardan kaynaklanan hiperglisemi ile karakterize edilen bir metabolik hastalıklar grubudur" şeklinde olan diyabet gibi bulaşıcı olmayan hastalıklarda benzer bir daha geniş hastalık görüşü zaten diğer karmaşık kronik hastalıklarda kullanılmaktadır. Diyabetle ilişkili kronik hiperglisemi, sıklıkla göz, böbrekler, sinir sistemi, kardiyovasküler sistem gibi çeşitli dokularda kalıcı hasar, işlev bozukluğu veya organ yetmezliği ile ilişkilidir. Bu operasyonel tanımda dikkat edilecek şey birden çok neden içerdiği ve hepsinin hiperglisemi ile sonuçlanan patobiyolojik mekanik yolları tanımladığıdır. Aynı şey, çeşitli klinik ifadelerle farklı nedenlere sahip olan KOAH için de söylenebilir. Ayrıca, diyabet tanımının herhangi bir operasyonel tanı kriteri

içermediği unutulmamalıdır. Bunun yerine, farklı hastalık aşamalarını tanımlamak için vekil belirteçlerin (glisemi veya hemoglobin A1C) pratik eşikleri kullanılır (B. Celli, vd., 2022). Bu akıl yürütmeyi takiben ve bir hastalık tanımının oluşturulmasına rehberlik eden kurallar kabul edilerek, KOAH'ın aşağıdaki şekilde tanımlanmasını önerilmektedir:

"KOAH, hava yollarının (bronşit, bronşiyolit) ve/veya alveollerin (amfizem) kalıcı anormallikleri nedeniyle sıklıkla aşamalı hava akımı sınırlaması ile sonuçlanan kronik solunum semptomları (nefes darlığı, öksürük, balgam çıkarma) ile karakterize heterojen bir akciğer hastalığıdır." (Başyiğit, 2010).

1.3. KOAH Tanı Kriterleri

Şu anda KOAH tanısı, FEV1/FVC, 0.7 ile bir FVC manevrası sırasında tam olarak geri döndürülemez hava akımı kısıtlamasının varlığını gerektirir, çünkü bu eşiğin altındaki değerler kötü sonuçlarla ilişkilidir. Bununla birlikte, birkaç ölçülebilir semptom, yapısal değişiklikler ve pulmoner fonksiyonel anormallikler hava akımı sınırlamasının göreceli eşiğinden önce gelebileceğinden, KOAH hastalığı kompleksinin tanımındaki diğer önemli aşamaları dahil edilme kapasitesini artıran KOAH öncesi aşamalar için tanı kriterlerini ana hatlarıyla belirtmek mümkündür (Tablo 1) (Xiong, vd., 2020).

Tablo 1.

KOAH Geliştirme Riski Yüksek Olan Kişileri (Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı [pre-KOAH] öncesi) ve Hastalığı Doğrulanmış (KOAH) Olanları Belirlemeye Yönelik Tanı Kriterlerinin Operasyonel Tanımlayıcıları ve Eşik Değerleri

	Tanı Kriterleri	
	Pre-KOAH	**KOAH**
Spirometri (post-bronkodilatör)	FEV1/FVC≥0.7 ve	FEV1/FVC<0.7 ve

Tablo 1'in devamı		
Semptomlar	Kronik bronşit (üç yıldır olan üç aylık sürelerle her gün olan öksürük ve balgam) ve/veya	Kronik bronşit, dispne, yorgunlulk, komorbiditeler ve/veya
Fonksiyonellik	tahmini DLCO<%80 veya FEV1 düşüşü >40ml/yıl veya PRISM ve/veya	Düşük DLCO, PAH, akciğer hiperinflasyonu, hipoksi, hiperkapni ve/veya
Yapısal	Amfizem (BT algoritmlerinde >%5ten fazla ya da görsel olarak tanı konularak), vasküler remodeling	Amfizem, hafa yolu tıkanıklığı, vasküler remodeling

BT= Bilgisayarlı Tomografi; DLCO= Karbon Monoksit Difüzyon Kapasitesi; PAH= Pulmoner Arteryel Hipertansiyon; PRISM= Korunmuş Oran-Bozulmuş Spirometri

1.4. Erken KOAH

"Erken" kelimesinin anlamı "bir sürecin başlangıcına yakın" demektir. KOAH hayatın erken döneminde başlayabilir. KOAH klinik olarak tezahür etmesi uzun zaman aldığından erken KOAH'ın belirlenmesinde klinik karar verme süreci çok zordur. Erken biyolojik başlangıç mekanizmalarıyla ortaya çıkan ve sonunda KOAH'a yol açacak olan ilk bulgulara yansıyan semptomlar, fonksiyonel kısıtlılık ve/veya yapısal anormallikler klinikte erken ayırt edilmelidir. Buna dayanarak GOLD, erken KOAH terimini uygun olduğunda yalnızca erken biyolojik mekanizmaları tartışmak için kullanmayı önermektedir (B. Celli, vd., 2022).

1.5. Hafif KOAH

"Hafif" ile erken hastalık terimi, birbirinin yerine kullanılmaktadır ancak bu varsayım yanlıştır. Yukarıda belirtildiği gibi, erken başvurular zamana, hafif hastalığa atıfta bulunurken, şiddeti GOLD'un tavsiye ettiği gibi olmalıdır. Yani hafif KOAH'ta tahmin edilen FEV1 değeri normal olarak ifade edilir (B. Celli, vd., 2022).

1.6. Genç Hastalarda KOAH

"Genç" terimi, Dünya Sağlık Örgütü'nün üzerinde anlaşmaya vardığı gibi, hastanın kronolojik yaşıyla doğrudan ilgilidir. Akciğer fonksiyonunun yaklaşık 20-25 yaşlarında zirve yaptığı göz önüne alındığında ve genç hastaların yaşlı hastalara benzer şekilde KOAH geliştirebileceği görüldüğünden, GOLD 20-50 yaş arası KOAH'lı hastaları genç olarak kabul etmektedir (Sanchez-Salcedo, vd., 2014).

1.7. Pre-KOAH

Bu terim, hava akımı kısıtlaması olmaksızın solunum semptomları ve yapısal ve/ veya fonksiyonel anormallikleri olan ve kalıcı hava akımı kısıtlaması (yani KOAH) geliştirebilen (veya geliştirmeyebilen) her yaştan bireyi tanımlar (B. R. Celli ve Agustí, 2018).

1.8. Revize KOAH

KOAH ile ilgili bilgiler, ilk kez 1821'de Rene Laennec tarafından amfizem olarak tanımlandığında yarı-yetim, önlenemez ve tedavi edilemez bir hastalıktan, patogenezi,

nedensel ajanları, klinik ifadeleri ve tedavisi için araştırmaların pencere açtığı bir hastalığa önemli ölçüde değişti. Onlarca yıldır edinilen bilgilerle desteklenerek, KOAH teriminin anlamını farklı önleyici ve terapötik stratejilerden fayda sağlayabilecek çeşitli nedensel ajanları ve aşamaları içerecek şekilde genişletirken, KOAH'ın kabul edilen kısaltmasının koruması önerilmektedir. Bu öneri, farklı KOAH türlerinin oluşumunda yer alan patobiyolojik mekanizmaların daha iyi anlaşılmasını amaçlayan çalışmaların planlanmasına yardımcı olmalıdır. Bugünkü bilinenlerin çoğu, neredeyse tamamen sigara içmeye bağlı KOAH'a odaklanan çalışmalardan elde edilmiştir, ancak bu sonuçlar, dünya çapında geliştirilen birçok kılavuzda doğrudan diğer KOAH nedenlerine göre tahmin edilmiştir. Bu KOAH'lardan bazıları, yeterince araştırılmamış farklı etkili birincil ve ikincil önleme ve tedavilere uygun olabilir. KOAH'ın nedeni, doğası ve evrimi hakkında artan bilgi birikiminin getirdiği ilerlemelerle iyileşmesi beklenilmektedir (B. Celli, vd., 2022).

İKİNCİ BÖLÜM
KURAMSAL ÇERÇEVE/ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. KOAH Immünopatolojisi

2.1.1. KOAH Hastalarının Alt Solunum Yollarının Duvarındaki Inflamatuar Hücreler

İnflamasyon, stabil KOAH'ın merkezi bir özelliği olup, hava yollarının ve akciğerlerin yapısal hücrelerinde aktivasyon ve değişikliğe (alt hava yolları ve akciğerin yeniden şekillenmesi) ve infiltre olan inflamatuar hücrelerin aktivasyonuna ve/veya toplanmasına neden olur (Barnes, 2014). Sigaraya bağlı KOAH'ta kronik hava akımı obstrüksiyonu, küçük hava yolu inflamasyonu ve yeniden şekillenmesi ile akciğer parankimal yıkımına bağlı olarak akciğer elastikiyetinin kaybının bir kombinasyonundan kaynaklanır. Pulmoner amfizem genellikle yalnızca artan hastalık şiddeti ile ortaya çıksa da, hava akımı obstrüksiyonu olmayan hastalarda da ortaya çıkabilir (Galbán, vd., 2012). Küçük hava yollarındaki lezyonlar, KOAH ilerlemesinin ve ciddiyetinin ana belirleyicisidir ve toplam küçük hava yolu duvar kalınlığı ile FEV1 arasında güçlü bir ters ilişki vardır (John E., vd., 2011). Stabil KOAH hastalarında alt hava yolları ve akciğer iltihabı, artan sayıda makrofaj, nötrofil, T ve B lenfosit ve dendritik hücre ile karakterizedir. Bununla birlikte, baskın inflamatuar hücre tipi, hastalığın ciddiyetine göre değişir; en şiddetli (derece III ve IV) hastalıkta artan sayıda nötrofil ve B lenfosit mevcuttur (Postma, vd., 2014). Alt grupları da dahil olmak üzere bu inflamatuar hücrelerin fonksiyonel rolü hala büyük ölçüde bilinmemektedir, ancak lenfositler ve makrofajlar arasındaki etkileşim, alt solunum yolları inflamasyonunun başlangıcını, ilerlemesini ve ciddiyetini düzenleyebilir ve inflamasyon aktivasyonu değil, stabil KOAH'ın şiddetinin ilerlemesi ile doğuştan gelen bağışıklığın korele olduğuna dair artan kanıtlar vardır. Stabil hafif/orta şiddette KOAH'lı hastaların bronşiyal biyopsilerinde inflamatuar hücre infiltrasyonunun analizi, sigara içmeyen kontrol grubu ile karşılaştırıldığında artmış bir inflamatuar hücre infiltrasyonu göstermektedir. Sigara içenlerde hava akımı obstrüksiyonu gelişimi, daha belirgin küçük hava yolu inflamasyonu ve fibrozis ve düz kas hipertrofisine

bağlı olarak duvarlarında artmış kalınlık görünümü ile ilişkilidir (Barnes, 2014). KOAH'lı hastaların küçük hava yollarında inflamatuar sürecin bölgesel bir dağılımı vardır. KOAH'lı sigara içenler, submukozada (bazal membranın distal kenarından düz kasın iç kenarına uzanan) adventisyaya (düz kasın dış kenarından uzanan) kıyasla daha yüksek lökosit yoğunluğuna (CD45+ hücreler) sahiptir. alveoler bağlantılara kas) sahiptir (Saetta, vd., 2000). Aslında, küçük hava yollarında hacmin yüzey alanına oranı (V/SA) olarak ölçülen toplam duvar kalınlığı ile FEV1 arasında güçlü bir ters ilişki vardır. KOAH'ın ilerlemesi aynı zamanda lümende enflamatuar mukus eksüdalarının birikmesi ve lenfoid foliküller oluşturan doğal ve adaptif enflamatuar immün hücrelerin duvarın sızması ile de ilişkilidir. CD4+ hücreleri içeren küçük hava yollarının yüzdesi, CD8+ hücreleri, B hücreleri, foliküller, makrofajlar ve nötrofiller içeren lenfoid agregatlar da normal akciğer fonksiyonuna sahip sigara içen kontrol grubuna kıyasla KOAH'ın şiddeti ilerledikçe artar (Hogg, J. C., vd., 2004). Bu nedenle, stabil KOAH'lı hastaların küçük hava yollarında mevcut olan inflamatuar yanıtın, normal akciğer fonksiyonuna sahip sigara içenlerde görülen tahriş edici maddelere karşı inflamatuar yanıtın bir amplifikasyonu olduğu düşünülür (Barnes, 2004).

Stabil Hastalarda T Lenfositler ve KOAH Immünopatolojisi

Çoğu çalışma, hafif/orta derecede stabil KOAH'lı hastaların kanında ve alt solunum yolu dokularında artmış sayıda CD8+ T lenfosit bulmuştur; balgamda ve BAL'da da bu hücreler artar ancak bu salgılarda lenfosit sayısı yok denecek kadar azdır ve sayması çok zordur. Sigara içme durumu, sigara öyküsü, hava akımı obstrüksiyonunun derecesi ve pulmoner amfizem, artmış CD8+ hücreleri ve/veya CD8+/CD4+ oranı ile ilişkilidir (Barnes, 2014; Hogg & Timens, 2009). Nükleer faktör-kappa B (NF-κB), STAT-4, interferon (IFN)-gama ve performansı ifade eden bu aktive edilmiş CD4+, CD8+ hücrelerinin sayısı da artmıştır (Hogg & Timens, 2009). CD3+'nın (ve bunların CD4+ ve CD8+ alt kümeleri) T lenfositlerinin KOAH'ın immünopatogenezindeki fonksiyonel rolü çok az bilinmektedir ve aktif bir araştırma alanıdır (Tzanakis, vd., 2004). Balgam CD8+

hücrelerinin sayısı, normal akciğer fonksiyonuna sahip sigara içen ve sigara içmeyen deneklerle karşılaştırıldığında stabil KOAH hastalarında da artmıştır ve bunlar oldukça aktiftir ve yüksek performans seviyeleri ifade eder. Balgam CD8+-interlökin (IL)-4 hücreleri hem stabil KOAH hastalarında hem de normal akciğer fonksiyonuna sahip sigara içen kontrollerde sigara içmeyen kontrollere göre azalırken, CD8+-IFN-gama hücreleri kontrollere kıyasla sadece KOAH'ta önemli ölçüde azalır. CD8+-IL-4/CD8+-IFN-gama oranı ile FEV1 (% pred) arasında anlamlı bir ilişki yalnızca KOAH hastalarında bulunmuştur (Tzanakis, vd., 2004). T lenfositleri, başlıca CD8+ hücreleri, stabil KOAH hastalarının bronşiyal mukozasında baskındır. Bununla birlikte, hafif/orta derecede KOAH hastaları, normal akciğer fonksiyonuna sahip, yaş ve sigara içme alışkanlığı açısından eşleştirilmiş, sigara içen kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, submukozadaki CD3+ ve CD8+ hücre sayılarında fark yoktur (Di Stefano, vd., 2002). Normal akciğer fonksiyonuna sahip sigara içenler de, sigara içmeyen kontrol grubuna kıyasla daha az ölçüde olsa da, CD3+ ve CD8+ hücrelerinin sayısında artış göstermiştir (Di Stefano, vd., 2001, 2002). Bu veriler, T lenfosit artışının sigara içmenin bir etkisi olabileceğini düşündürmektedir (Costabel ve Guzman, 1992). Çalışmaların çoğu başlangıçta, hafif/orta derecede stabil KOAH'lı hastaların küçük hava yolu duvarındaki CD4+ ve CD8+ T lenfositlerinin sayısında (veya oranlarında), normal akciğer fonksiyonuna sahip sigara içen kontrollere kıyasla önemli bir değişiklik bildirilmemiştir. Ancak daha yakın bir zamanda yapılan bir çalışmada, normal akciğer fonksiyonuna sahip sigara içen kontrol grubuna kıyasla KOAH'ın şiddeti ilerledikçe küçük hava yollarındaki CD4+ ve CD8+ sayısının arttığını bildirmiştir. CD8+ T lenfositlerinin azaltılmış apoptozisi, hafif/orta KOAH'lı sigara içenlerde hava yolu submukozasında bu hücrelerin birikmesine katkıda bulunan önemli bir mekanizma olabilir (Siena, vd., 2011). KOAH hastalarının bronşiyal biyopsilerinde ve stabil KOAH, BAL CD8+ CD45RA+ ve düşük CD8 hastalarında CD4+ ve CD8+ T lenfositlerinin %30'u nükleer p65 NF-κB alt birimini birlikte eksprese ettiğinden, bu hücreler aktif ve daha olgundur CD45R0+ sayısı normal akciğer fonksiyonuna sahip sigara içenlere göre görülmektedir. Olgun T hücrelerinin doku hasarına neden olma eğilimi daha yüksektir (Barceló, vd., 2008).

Th/Tc1, Th2/Tc2, Th17 ve γδ T Hücreleri Lenfosit Alt Kümeleri ve KOAH Immünopatolojisi

IFN-γ üreten Thl/Tc1 hücreleri tarafından eksprese edilen kemokin reseptörü CCR5'in, kontrol sigara içenlerle karşılaştırıldığında hafif/orta şiddette hastalıkta arttığı rapor edilmiştir, bu da astımdan farklı olarak, yaygın bir Th1/Tc1 immün gözetiminin olduğunu düşündürmektedir (Di Stefano, vd., 2001). Bu durum hafif/orta şiddette KOAH hastalarında stabil koşullarda gelişir. Bu, hem sigara içenler hem de içmeyenler ile karşılaştırıldığında hafif/orta şiddette KOAH hastalarının bronşiyal epiteli ve submukozasında transkripsiyon faktörü sinyal transdüseri ve transkripsiyon aktivatörlerinin (STAT)4 ekspresyonunun artmasıyla desteklenmiştir (Hogg ve Timens, 2009). STAT4 nükleer ekspresyonu, sigara içenlerin submukozasındaki IFN-γ+, CD3+ ve CD4+ hücrelerinin sayısı ile önemli ölçüde korelasyon gösterir, ancak CD8+ hücrelerinin sayısı ile ilişkili değildir: CD4+'nın %50'si, CD8+'nın üçte biri ve bronşiyal submukozadaki CD68+ hücrelerinin üçte biri ko-STAT4 proteini sigara içmeyenleri ifade etmiştir (Hogg ve Timens, 2009). Bu veriler, hafif/orta şiddette hastalıkta yaygın bir Th1/ Tc1 immünolojik yanıtı fikrini desteklemektedir. Aynı zamanda STAT4, CTLA-4'ün bir sonucu olarak T hücrelerinin efektör fonksiyonunu tutmasını serbest bırakarak, T hücrelerinin tam potansiyelle akciğer hasarına neden olacak şekilde agresif efektörler haline gelmesine izin verecektir (Cosio, 2004). Kronik bronşit hastalarında mukus bezlerinde IL-4 üretiminin CD8+ lenfositlerinden bağımsız olduğunun gösterilmesi, yine CD4+ lenfositlerinin, sigara içenlerde mukus bezlerinin aşırı salgılanmasıyla ilişkili Th2 sitokin yanıtında esas olarak rol oynayabileceğini düşündürmektedir (Zhu, vd., 2002). Bu veriler, aktivasyon durumunun hücre varlığı üzerindeki önemini vurgulamaktadır. IL-17A ve/veya IL-17F üreten T lenfosit alt grubu Th17, nötrofilik ve makrofaj inflamasyonunun düzenlenmesinde rol oynar, KOAH'ta alt solunum yolu yapısal hücrelerinin aktivasyonunu modüle eder ve otoimmün yanıtları yönlendirebilir (Halwani, vd., 2013). IL-17 ayrıca IL-17 üreten γδ T (γδ T-17) hücreleri, doğal öldürücü T-17 hücreleri ve IL-17 üreten lenfoid doku kaynaklı hücreler dahil diğer hücreler tarafından da eksprese edilir. Hem IL-17A hem de IL-17F'nin ekspresyonu, hem KOAH'lı hem de KOAH'lı deneklerden

alınan akciğer eksplantlarında sigara dumanına maruz kalmayla artar, bu da yerel akciğer hücrelerinin IL-17 üretimine katkıda bulunduğunu destekler. Son olarak, kontrol hastalar karşılaştırıldığında stabil KOAH hastalarında balgam IL-17A seviyeleri artmıştır (Maneechotesuwan, 2020). Yüksek IL-17A/F ekspresyonu, NF-κB ve PI3K yolaklarına bağlıdır. IL-17A+ ve IL-22+ immünoreaktif hücrelerin sayısı, sigara içmeyen kontrol grubuna kıyasla stabil KOAH'ın bronşiyal submukozasında artmıştır, ancak IL-17F ve IL-21'in ekspresyonu denek grupları arasında önemli ölçüde farklı değildir. IL-17A ve IL-17F boyaması endotel hücrelerinde ve enflamatuar hücrelerde ve fibroblastlarda gözlenmiştir. İlginç bir şekilde, IL-17+ hücrelerinin <%5'inin T hücreleri olduğunu ve IL-17A+ hücrelerinin >%90'ının CD31+ endotel hücreleri olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca, IL-22'de, IL-22+ hücrelerinin <%10'u T hücreleriydi ve IL-22+ hücrelerinin >%80'i CD31+ endotel hücreleridir (Di Stefano, vd., 2009).

Küçük hava yolu alt epitelinde IL-17A eksprese eden inflamatuar hücrelerin sayısı, KOAH'lı hastalarda kontrol grubuna göre daha yüksektir. IL-17A, lenfositler, nötrofiller ve makrofajlar tarafından eksprese edilir. IL-17F'nin ekspresyonu, epitelyal hücrelerde ve lenfoid foliküllerde IL-17A'dan daha fazladır, ancak denek grupları arasında önemli farklılıklar yoktur, oysa IL-17A ekspresyonu, subepitelyumda IL-17F'den daha yüksektir. IL-17A ekspresyonu, hem sigara içenlere hem de KOAH'ı olmayan hiç sigara içmeyenlere kıyasla şiddetli ila çok şiddetli stabil KOAH'ta (GOLD III/IV) önemli ölçüde yüksektir. CD3+ T hücreleri çok şiddetli KOAH'ta IL-17A eksprese etse de, çoğu IL-17A+ hücresi triptaz pozitif mast hücreleridir. CXCL12, KOAH akciğerlerindeki lenfoid foliküllerde yüksek oranda eksprese edilir ve pulmoner ekspresyon, son dönem KOAH'ta önemli ölçüde yükselmiştir. Bu, şiddetli ila çok şiddetli KOAH'lı hastaların periferik akciğerlerindeki IL-17A'nın, CXCL12'nin aktivasyonu yoluyla hastalığın ilerlemesine ve lenfoid foliküllerin gelişimine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir (Roos, vd., 2015). Buna karşılık, KOAH hastalarında, sigara içmeyen sağlıklı deneklerin yanı sıra kan Th10 hücrelerininkiyle karşılaştırıldığında, indüklenmiş balgamda ve BAL'de anlamlı derecede daha düşük γδ T hücresi sayıları olduğu gösterilmiş. γδ T hücrelerinin miktarı, sadece KOAH grubunda FEV1 ve sigara paket-yılı ile negatif korelasyon gösterdiği

saptanmıştır (Urboniene, vd., 2013). Aberran akciğer CD4+ T hücre polarizasyonu, yalnızca ilerlemiş KOAH'ta yaygın görünmekle kalmaz, aynı zamanda normal akciğer fonksiyonuna sahip bazı sigara içenlerde de bulunur ve spesifik KOAH fenotiplerinin gelişmesine ve ilerlemesine katkıda bulunabilir. Uyarılmamış akciğer CD4+ T hücrelerinin analizi, Thl, Th2, Th17 ve FOXP3+ T düzenleyici alt kümelerini ve bunların imza sitokinlerini kontrol eden transkripsiyon faktörleri için belirgin şekilde azaltılmış mRNA transkriptleri ile karakterize edilen, özellikle KOAH'ta bir moleküler fenotip tanımladı. Uyarılmamış akciğer CD4+ T hücre imzalarının yansız analizi, klinik özelliklerle ilişkili iki farklı moleküler fenotip tanımladı: IL-10 ekspresyonu, amfizem ile bağımsız ve ters korelasyon gösterdi, ancak spirometri ile değil ve IFN-γ ekspresyonu, bağımsız ve indirgenmiş spirometri ile ters korelasyon gösterdi, ancak azaltılmış spirometri ile DLCO veya amfizem ters korelasyon göstermedi. KOAH hücrelerinin stimülasyonu minimal IFN-y veya diğer inflamatuar mediyatörleri indüklemiştir, ancak birçok hasta daha fazla CCL2 üretmiştir ve T efektör hafıza alt kümesi daha az üniform olarak baskın olmuştur ve azalmış IFN-y üretimi ile korelasyon göstermemiştir (Freeman, vd., 2014).

KOAH Immünopatolojisinde T Düzenleyici Lenfositler

CD4+,CD25+,FOXP3 düzenleyici T hücrelerinde (Treg'ler) bir eksiklik, bağışıklık sisteminin otoantijenlere karşı toleransını bozabilir ve böylece bağışıklık hastalığına yol açabilir. Treg'ler, toplam CD4+ T hücrelerinin %1 ila 3'ünü temsil eder ve IL-10 üreterek ve büyüme faktörü (TGF)-β1'i dönüştürerek bölge-lokalize immün baskılama uyguladıkları antijen istilasının doku bölgelerinde birikirler. FOXP3'ün hücre içi ifadesi, şu anda insan Treg hücreleri için en spesifik belirteç olarak kabul edilmektedir (Cosio, vd., 2009; Isajevs, vd., 2009). Normal akciğer fonksiyonuna sahip kontrol sigara içicilerle karşılaştırıldığında KOAH'lı hastalarda baskılayıcı olan CD25++ CD45RA+ dinlenme Treg'lerinin (rTreg'ler) ve CD25+++CD45RA-aktive edilmiş Treg'lerin (aTreg'lerin) kan sayısında azalma ve CD25++ CD45RA-sitokin salgılayan (Fr III) sayısında önemli ölçüde artış vardır. Ek olarak, KOAH hastalarından alınan Treg'ler, KOAH'ta efektör T hücre disfonksiyonuna

katkıda bulunan sağlıklı deneklerden alınan Treg'lerden daha fazla T hücre proliferasyonunu baskılamaktadır (Kalathil, vd., 2014). Balgam FOXP3 mRNA seviyeleri, normal akciğer fonksiyonuna sahip sigara içen kontrollere kıyasla stabil KOAH hastalarında azalmıştır ve normal akciğer fonksiyonuna sahip sigara içen kontrol grubuna kıyasla stabil KOAH'ın BAL'sindeki Treg sayıları azalmıştır (Barceló, vd., 2008). KOAH dokusundaki Treg sayıları konusunda tartışmalar vardır. Stabil KOAH'lı hastaların bronşiyal biyopsilerindeki veya akciğerlerindeki CD4+CD25+FOXP3 Treg sayısı, sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında anlamlı bir fark göstermez, ancak KOAH hastalarının hava akımı obstrüksiyonunun derecesi küçük hava yollarında azalır. Başka bir çalışma da, amfizem hastalarından alınan akciğer dokusunda azalmış CD4+ CD25+ Treg hücre sayısını gösterilmiş, bu da FOXP3 mRNA ekspresyonu ile ilişkili olduğu bulunmuştur (S. H. Lee, vd., 2007).

KOAH Hastalarında B Lenfositler, Lenfoid Foliküller ve Otoimmünite

KOAH'ın patogenezinde otoimmünitenin rolü olduğuna dair artan kanıtlar vardır. Stabil KOAH'ın patogenezinde B lenfositlerinin rolü bilinmemektedir, ancak okside hücre dışı matriks proteinlerine veya endotelyal hücrelere karşı otoantikorlar salgılayabilirler. Oksidatif stresin bir sonucu olarak ortaya çıkan karbonil ile değiştirilmiş proteinler, oto-antikor üretimini teşvik eder. Karbonil modifiye antijenlere karşı serum antikor titresi, şiddetli KOAH'lı hastalarda kontrol hastalarla karşılaştırıldığında önemli ölçüde artar. Antikor seviyeleri, hastalığın ciddiyeti ile ters orantılıdır ve tip olarak ağırlıklı olarak IgG1'dir. Endotelyal hücrelere karşı otoantikorların yanı sıra periferik KOAH akciğerinin damarlarında aktif kompleman birikimi de görülmektedir (Kirkham, vd., 2012). KOAH hastalarının küçük hava yollarının adventisyasına B lenfositlerinin infiltrasyonu bildirilmiştir ve B hücreleri içeren küçük hava yollarının ve germinal merkezleri olan iyi sınırlı foliküller içeren lenfoid agregatların yüzdesi KOAH'ın şiddeti ilerledikçe artmaktadır. Bu lenfoid koleksiyonlar, sigara içmeyenlerin küçük hava yollarında nadiren gözlenir, normal akciğer fonksiyonuna sahip sigara içenlerin ve hafif ila orta şiddette

KOAH'ı olan sigara içenlerde yaklaşık %5'inin küçük hava yollarında bulunur ve ayrıca şiddetli ve çok şiddetli KOAH hava yollarının %25-30'unda bulunur (Hogg, J. C., vd., 2004). Diğer çalışmalarda kontrol grubu deneklerle karşılaştırıldığında çok şiddetli KOAH'ı olan hastaların sadece küçük hava yollarında bağ dokusunda (ancak epitelde veya düz kasta değil) artan sayıda B hücresi gözlemlemiştir. KOAH hastalarının küçük hava yollarında CD21+ ve CD35+ foliküler dendritik hücreler ile çevrili lenfoid foliküller gösterilmiştir ancak bu folliküllerde daha düşük sayıda CD4+ ve az sayıda CD8+ T lenfosit serpiştirilmiş olduğu tespit edilmiştir (van der Strate, vd., 2006). B lenfositleri esas olarak IgM taşır ancak IgD negatiftir, bu da onların bir dereceye kadar aktive olmuş olabileceklerini düşündürür. Ayrıca, infiltratın baskın bir kısmı, bellek B lenfositleri için bir belirteç olan CD27+'dır (Kirkham, vd., 2012). B lenfositleri oligoklonaldır, bu onların lokal antijene özgü immün yanıtlarda rol oynadıklarını düşündürür. Mikrobiyal antijenlerin, sigara dumanından elde edilen antijenlerin veya hücre dışı matris parçalanma ürünlerinden gelen antijenlerin önemli olup olmadığı veya bu yanıtın yararlı mı yoksa zararlı mı olduğu bilinmemektedir (Kirkham, vd., 2012). Tümör nekroz faktörü (TNF) ailesine (BAFF) ait B hücre aktive edici faktörün varlığı, ciddi ve çok şiddetli KOAH hastalarında foliküller içinde, CD4+ hücreleri, dendritik hücreler, foliküler dendritik hücreler ve ayrıca amfizemli hastalarda retiküler hücreler fibroblastik çevresinde artar. BAFF, B hücresinin hayatta kalması ve olgunlaşmasından sorumludur ve sitokini teşvik eden bir Thl yanıtıdır (Polverino, vd., 2010). Ulusal Amfizem Tedavi Çalışması (NETT) çalışmasında, oral ve/veya inhale glukokortikoid alan şiddetli ve çok şiddetli KOAH hastalarında lenfoid foliküller içeren hava yollarının sayısında azalma yönünde güçlü bir eğilim vardır (Hogg, vd., 2007). Bu, TORCH çalışması (Towards a Revolution in COPD Health) gibi uzun süreli kontrollü klinik çalışmalarda gözlemlenen yüksek doz inhale glukokortikoid alan hastalarda artan pnömoni riskinden sorumlu olabilir (Calverley, vd., 2007). T lenfositlerinde CD57+ ekspresyonu, in vitro replikatif yaşlanmanın bir belirtecidir. KOAH hastalarının lenfoid folikülleri içindeki CD57+ hücrelerinin yoğunluğu, sigara içmeyen ve KOAH'ı olmayan sigara içenlerle karşılaştırıldığında önemli ölçüde artmıştır. Bunu desteklemek için, önemli telomer kısalması saptanmadan KOAH'lı hastalardan alınan küçük hava yolu epitel hücrelerinde telomerle ilişkili DNA hasar odakları artmıştır. Ayrıca, hücre apoptozu olan lenfoid foliküllerin yüzdesi de KOAH

hastalarında önemli ölçüde daha yüksektir ve KOAH'ta lokal bir immün disfonksiyon hipotezini destekler (Olloquequi, vd., 2011).

KOAH Hastalarında Nötrofil Granülositleri

Nötrofiller, hafif/orta derecede hastalığı olan denekler ve kontrol içicilerle karşılaştırıldığında ciddi stabil KOAH hastalarının bronşiyal epitelyumundaki artmış makrofaj inflamatuar protein-1 (MIP-1α) ekspresyonuna yanıt olarak KOAH hastalarının balgamında ve BAL'ında birikir. Hafif/orta hastalık ve her iki kontrol grubu ile karşılaştırıldığında artan miyeloperoksidaz (MPO) immünreaktivitesi de görülmektedir (Balzano, vd., 1999; Thompson, vd., 1989). Submukozada, hem hafif/orta KOAH hastaları hem de sigara içen kontroller ile karşılaştırıldığında kontrol içicilere kıyasla nötrofiller ve makrofajlarda (CD68+) daha fazla artış ve CCR5 reseptörünü (CCR5+CD3+) birlikte eksprese eden T lenfositleri (CD3+ hücreleri) ve CD3+ hücrelerinin sayısında azalma araştırmalarda gösterilmiş. Hafif/orta şiddette KOAH, sigara içen ve içmeyen kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ciddi şekilde hastaların submukozasında MPO+ ve nitrotirozin+ (NT) hücrelerinin arttığı da gösterilmiştir (Barnes, 2014; Hogg ve Timens, 2009). Nitrotirozin oluşumu, doku hasarına, küçük proinflamatuar peptitlerin salınmasına ve doku nötrofilleri ve makrofajlarının adezyonunun ve aktivasyonunun artmasına neden olan peroksinitrit aktivitesi ile ilişkilidir. IL-8, nötrofillerden MPO salınımını indüklediğinden, bu enflamasyonu sürdürmek için bir ileri besleme sürecini yönlendirebilir. İlginç bir şekilde, pro-nötrofilik kemokinler analizi, sigara içmeyen kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ciddi stabil KOAH hastalarının epitelinde daha yüksek CCL5 (RANTES) seviyeleri ve submukozasında CCL5+ ve CXCL7+ (NAP-2) hücrelerinin sayısında artış gösterilmiş. Kontrol sigara içenlerle karşılaştırıldığında şiddetli KOAH'ın bronşiyal mukozasında ekstraselüler matriks bileşenleri CD44 ve CD11b'nin nötrofilik ekspresyonunda artış bulunmuş. Nötrofillerin artan yapışkanlığı, ciddi şekilde hasta olan hastaların bronşiyal dokusunda bu hücrelerin kalıcılığının artmasına da katkıda bulunabilir (Hogg, J. C., vd., 2004). Normal akciğer fonksiyonuna sahip sigara içen kontrol grubuna

kıyasla KOAH'ın şiddeti ilerledikçe küçük hava yollarında artan nötrofil sayıları bulunur. Bronşiyal dokuda fagositik ve proteolitik aktiviteye sahip hücrelerin prevalansı ile şiddetli stabil KOAH'ta yer alan hücresel tiplerde bir kayma olduğunu göstermektedir. Tersine, ağır hastalığı olan KOAH hastalarında T hücresi aracılı immün yanıt bozulabilir veya modifiye edilebilir (Di Stefano, vd., 2001). Astımın aksine, çoğu çalışma, normal akciğer fonksiyonuna sahip sigara içen kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, KOAH hastalarının küçük hava yollarının duvarındaki EG2+ hücreleri veya histokimyasal boyama ile tanımlanan mast hücrelerinin (triptaz+) veya eozinofil granülositlerinin sayısında anlamlı bir farklılık göstermemektedir (Baraldo, vd., 2004). Alt solunum yolları epitel hücreleri (AEC) ve dendritik hücreler (DC), solunum yolu epiteli içinde yakın bir yerde bulunur ve solunan patojenler ve çevresel kirleticiler/tahriş edici maddelerle karşılaşan ilk hücrelerdir. AEC ve DC, sitokinlerin, kemokinlerin, proteazların ve diğer çözünür medyatörlerin salınması ve doğrudan hücre-hücre teması yoluyla etkileşime girer ve bu etkileşimlerin, immün homeostazın sürdürülmesinde önemli bir rol oynaması muhtemeldir (Upham ve Stick, 2006). Astımdan farklı olarak, KOAH hastalarında bronşiyal epitelin fonksiyonel aktivitesi yeterince çalışılmamıştır ve çoğu çalışma, mukus salgılayan epitel hücrelerinin ve epitelyal kök hücrelerin rolüne odaklanmıştır. NF-κB, hafif/orta derecede stabil KOAH hastalarının bronşiyal epitelinde ve sigara içmeyen kontrollere kıyasla kontrol içicilerde daha az ölçüde aktive olur. NF-κB aktivasyonu, KOAH'ta IL-1, IL-6, IL-8, MCP-1, TNF-α ve ICAM-1 gibi proinflamatuar sitokinlerin artan ekspresyonundan sorumlu olabilir (Di Stefano, vd., 2002). Örneğin, hafif/orta derecede stabil KOAH'ta adezyon molekülü ICAM-1'in ekspresyonu viral enfeksiyonlara T hücresi aracılı yanıtta ve T hücresi epitelyal adezyonunda rol oynayabilir. Bu ekspresyon bronş epitelinde hem sigara içmeyen hem de halen sigara içen kontrol grubuna kıyasla artmıştır (T. Suzuki, vd., 2001).

KOAH Immünopatolojisinde Mukus Salgılayan Epitel Hücreleri ve Intraluminal Mukus

Hava yolu mukus sekresyonu ile KOAH arasındaki patofizyolojik ilişki karmaşıktır. KOAH'lı birçok hastada balgam üretiminin arttığı kronik bronşit vardır. Kronik bronşit varlığı, KOAH'a bağlı ölümün, artmış pnömoni riskinin ve akciğer fonksiyonunda hızlanan düşüşün bir göstergesidir. Müsinler, alt solunum yolu mukusunun ana bileşenidir ve birkaç müsin (MUC2, MUC5AC, MUC5B, MUC6 ve MUC8 dahil) alt solunum yollarında salgılanır. Küçük hava yollarının mukus içeren enflamatuar eksüdalarla tıkanması, şiddetli amfizemi olan hastalarda erken ölümle ilişkilendirilmiştir (Caramori, vd., 2009). Küçük MUC2'si olan stabil KOAH hastalarının balgamında artmış MUC5B ve MUC5AC miktarları vardır, ancak bronşiyal submukozal bez boyutunda fark yoktur (Caramori, vd., 2009). MUC5AC ekspresyonu, sigara içmeyenlerden oluşan kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, hem normal akciğer fonksiyonu olan sigara içenlerde hem de KOAH'lılarda bronşiyal yüzey epitelinde artmıştır (Caramori, vd., 2009). Bu, sigara içenlerde (KOAH olan veya olmayan) bronşiyal yüzey epitelinde artmış MUC5AC ekspresyonu bulan önceki çalışmaların sonuçlarını doğrular ve genişletir (O'Donnell, vd., 2004). Ek olarak, MUC5AC ekspresyonu ile paket yılı arasında anlamlı bir korelasyon vardır, tütün içiminin (ve akrolein ve oksidanlar gibi bileşenlerinin) NF-κB yoluyla bronşiyal epitel hücrelerinde MUC5AC'yi aktive etme potansiyelini vurgulamaktadır. Aksine, MUC5AC ekspresyonu, hem normal akciğer fonksiyonu olan sigara içenlere hem de sigara içmeyenlere (kontrol grupları) kıyasla KOAH hastalarının bronşiyal submukozal bezlerinde yükselir (Caramori, vd., 2009). MUC5B'nin hem bronşiyal yüzey epitelinde hem de submukozal bezlerde ekspresyonu gruplar arasında önemli ölçüde farklı olmadığı tespit edilmiş. NETT'de, rezeke edilen akciğer numunelerindeki küçük hava yollarının patolojik değişiklikleri ameliyat sonrası klinik sonuçlarla korele edildiğinde, araştırmacılar küçük hava yollarının mukus içeren inflamatuar eksudalarla tıkanmasının şiddetli amfizemli hastalarda erken ölümle ilişkili olduğunu bulmuşlardır. İlginç bir şekilde, şiddetli amfizemi olan hastalardan alınan eksize edilmiş akciğerlerde, küçük hava yollarına bir kateter sokulması ve bunların mukolitik bir ilaçla yıkanması, periferik akciğer direncini

önemli ölçüde azaltır (Silvers, vd., 1973). Normal akciğer fonksiyonuna sahip kontrol hastalarıyla karşılaştırıldığında hafif ila orta şiddette stabil KOAH'lı hastaların küçük hava yollarında PAS+ veya Alcian Blue+ goblet hücrelerinin sayısı önemli ölçüde farklı değildir. Buna karşılık, normal akciğer fonksiyonuna sahip sigara içenlerle karşılaştırıldığında, KOAH'lı hastalarda küçük hava yollarının bronşiyolar epitelinde intralüminal PAS+ (nötr müsinler) ve MUC5B+ mukus ve MUC5AC ekspresyonunda bir artış vardır. Bu değişiklikler, küçük hava yolları obstrüksiyonunun patogenezine ve KOAH hastalarında artan pnömoni riskine katkıda bulunabilir (Caramori, vd., 2004).

Nöronlar, Nöromediatörler/Nörotransmitterler, Nöroendokrin Sinir, Nöropeptitler, Nörojenik Inflamasyon ve KOAH Immünopatolojisi

Bağışıklık sistemi ile alt solunum yollarının nöroendokrin sistemi arasındaki etkileşim karmaşıktır ve KOAH'lı hastalarda araştırmalar sınırlıdır. Bağışıklık hücrelerinin birçok sitokin, kemokin, nöromediatör/nörotransmiter ve nöropeptit saldığı, bunların da merkezi ve periferik sinir sistemi ile bağışıklık sistemine ve in vitro ACh'nin Th17-farklılaşmasını destekleyebileceği açıktır (Di Comite, vd., 2007). Pilot veriler, 5-HT ve CGRP reseptör dağılımının, kontrollerle karşılaştırıldığında KOAH'lı hastaların akciğerlerinde değiştiğini göstermektedir. 5-hidroksitriptamin reseptörü 1F (HTR1F), kontrol hastalardaki bazal hücrelerin yalnızca bir alt grubu ile karşılaştırıldığında, KOAH'ta neredeyse tüm bazal hücrelerde eksprese edilir. Buna karşılık, KOAH'lı hastalarda hava yolu epitelinde CGRP reseptörü kalsitonin reseptörünün (CALCR) ekspresyonu azalırken, kontrol deneklerinde bazal hücrelerde artan lokalizasyon vardır. Benzer şekilde, HTR2B, kontrollerde artmış bazal hücre boyanması ile KOAH'ta diffüz bir epitel ekspresyonuna sahiptir (Gu, vd., 2014). Stabil KOAH'lı hastaların santral hava yollarında, normal akciğer fonksiyonuna sahip sigara içen kontrol grubuna kıyasla, epitel ve bezlerde azalmış NPY ekspresyonu ve azalmış NPY ekspresyonu ile paralel olarak, P maddesi (SP) ve VIP için artmış bir immünreaktivite vardır. Tüm bu üç nöropeptit düz kas tabakasındadır. Ek olarak, kronik bronşiti olan sigara içenlerin bronşiyal submukozal

bezlerinde VIP-pozitif sinirlerin yoğunluğu, bronşit olmayan deneklere göre önemli ölçüde artmıştır. Bununla birlikte, normal akciğer fonksiyonuna sahip asemptomatik sigara içicilerle karşılaştırıldığında, kronik bronşit semptomları olan sigara içenlerin bronşiyal epitelinde, bronşiyal bezlerinde ve damarlarında VIP reseptörü VPAC1R'nin ekspresyonunda artış vardır, ancak VPAC2R'de yoktur (Lucchini, vd., 1997). Bu hastalarda ayrıca bronşiyal submukozada hem VPAC1R hem de VPAC2R için pozitif olan mononükleer hücre sayısında artış vardır. KOAH'lı hastaların alt solunum yollarında bulunan nöropeptit yollarındaki bu anormalliklerin fonksiyonel rolü bilinmemektedir (Miotto, vd., 2004).

KOAH Immünopatolojisinde Alt Solunum Yollarının Endotel Hücreleri

Adezyon molekülü ELAM-1'in (Endotel Lökosit Adezyon Molekülü-1) ekspresyonu, hafif/orta derecede stabil KOAH hastalarında, hem sigara içmeyen hem de halen sigara içenlere kıyasla bronşiyal mukoza endotelinde artmıştır (Barnes, 2014; Hogg ve Timens, 2009) ve KOAH'ta nötrofil alımında yer alabilir. KOAH şiddeti artan hastaların bronşiyal biyopsilerinde Th17 ile ilişkili sitokinlerin immün ekspresyonu araştırılmış ve sigara içmeyen kontrollere kıyasla hafif/orta KOAH'lı hastalarda önemli ölçüde daha yüksek epitelyal IL-22 ve submukozal IL-22 ve IL-17 seviyeleri gözlemlenmiş. Th17 ile ilişkili bu sitokinlerin, bu hastaların bronşlarında dokusal nötrofilinin sürdürülmesinde rol oynadığını düşündürmektedir (Di Stefano, vd., 2009). İlginç bir şekilde, IL-17+ hücrelerinin %5'inden daha azının T hücreleri olduğu ve IL-17A+ hücrelerinin %90'ından fazlasının da CD31+ endotel hücreleri olduğu bazı çalışmalarda gözlemlenmiş. Devamında IL-22 göz önüne alındığında, IL-22+ hücrelerinin %10'dan azı T hücreleri olduğu ve IL-22+ hücrelerinin %80'inden fazlanın ayrıca CD31+ endotel hücreleri olduğu saptanmış; sitokinler ve bunların olası ilişkili nötrofilik etkileri nispeten mütevazıdır ve şaşırtıcı bir şekilde endotelyal hücreler, KOAH hastalarının bronşiyal mukozasında bu sitokinlerin toplam yukarı regülasyonuna önemli ölçüde katkıda bulunur (Di Stefano, vd., 2009). Ayrıca, hastalığın daha hafif evresinde başlayan bu pro-nötrofilik sitokinlerin yukarı

regülasyonu, pro-nötrofilik kemokinlerin (CCL5, CXCL7) hastalığın daha şiddetli bir evresinde yaygın hale gelmesiyle olası farklı bir rolü gösterir (Barnes, 2014; Hogg ve Timens, 2009). Bazı çalışmalarda, şiddetli pulmoner amfizemi olan şiddetli KOAH hastalarının periferik akciğerlerinde apoptotik alveoler epitelyal ve endotelyal hücrelerde artış vardır. Bu yapısal hücrelerin proliferasyonundaki artışla dengelenemezse, net sonuç akciğer dokusunun harabiyeti ve pulmoner amfizem gelişimidir. Vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) ekspresyonu, normal akciğer fonksiyonuna sahip sigara içenlerle karşılaştırıldığında KOAH'lı sigara içenlerin bronşiyol epitelinde önemli ölçüde azalır. Bununla birlikte, bronşiyol VEGFR-2, yalnızca yaşam boyu sigara içmeyenlerle karşılaştırıldığında, KOAH'ı olan ve olmayan sigara içenlerde azalmıştır. Bununla birlikte, stabil KOAH'lı hastaların periferik akciğerlerinde VEGF, VEGFR-2, GYP-1 ve NRP-1 ekspresyonu, normal akciğer fonksiyonuna sahip sigara içen kontrollere kıyasla azalmaz (Marwick, vd., 2006) ve normal akciğer fonksiyonuna sahip sigara içen kontrol grubu ile karşılaştırıldığında stabil KOAH'lı hastalarda küçük pulmoner arterlerin duvarında VEGF ekspresyonu oranı artar. Endotel kaynaklı vazodilatör ajanların (nitrik oksit, prostasiklin) salınımının azalması ve büyüme faktörlerinin ve vazokonstriktif ajanların (endotelin-1 gibi) artmış ekspresyonu ile ilişkili olan küçük pulmoner arterlerin endotel disfonksiyonu, hafif ila şiddetli KOAH'lı tüm hastalarda mevcuttur. Bu hastalarda ve normal akciğer fonksiyonuna sahip sigara içenlerde, küçük pulmoner arterler CD8+ T lenfosit infiltrasyonu ile kalınlaşmış intimalar gösterir (Rowan, vd., 2016).

2.1.2. KOAH’ta Pulmoner Hipertansiyon

Varlığı ve şiddeti hastalığın prognozu ile yakından ilişkilidir. Pulmoner damarların yeniden şekillenmesi, KOAH'ta pulmoner hipertansiyonun başlıca nedensel faktörüdür. İlerlemiş KOAH'ta pulmoner vasküler yeniden şekillenme, arteriyel hipokseminin ciddiyeti ile ilişkilidir. Bununla birlikte, hipoksemisi olmayan hafif KOAH'lı hastalarda ve hatta normal akciğer fonksiyonuna sahip sigara içenlerde yapısal anormallikler ve vasküler fonksiyon değişiklikleri de belirgindir (Rowan, vd., 2016).

2.1.3. İlaçların KOAH Immünopatolojisine Etkisi

Astımın aksine, stabil KOAH'ın glukokortikoid tedavisi, hava yolu inflamasyonunu ve akciğer fonksiyonundaki düşüşü azaltmada oldukça etkisizdir (Barnes, 2014). Bazı klinik fenotiplerin spesifik tedavilere daha iyi yanıt vermesi söz konusu olabilir (Caramori, vd., 2013).

2.1.4. KOAH Alevlenmelerinin Immünopatolojisi

Tespit edilen enfeksiyöz ajanın tipinden (bakteriyel veya viral) bağımsız olarak akut solunum yetmezliğine yol açan ciddi KOAH alevlenmeleri sırasında balgam nötrofil sayısında artış vardır; oysa eşlik eden bakteriyel enfeksiyonla birlikte olan veya olmayan virüs kaynaklı KOAH alevlenmeleri, balgamdaki eozinofil sayısının artmasıyla ilişkilidir, bu da balgam eozinofilisinin KOAH alevlenmeleri sırasında viral enfeksiyonun bir belirteci olabileceğini düşündürür (Papi, vd., 2006). İlginç bir şekilde, KOAH alevlenmeleri sırasında CD8+ T lenfosit eksprese eden IFN-γ/IL-4 oranında nispi bir azalma ile balgam CD8+ T lenfositlerinde artış bildirilmiştir (Tsoumakidou, vd., 2005). Bu nedenle, KOAH alevlenmeleri sırasında Tc2 benzeri bir immünofenotipe geçiş, virüs kaynaklı KOAH alevlenmeleri sırasında Tc2 aracılı immün yanıtları sırasında toplanan klasik bir efektör hücre olan eozinofillerin toplanmasını tetikleyebilir. Hafif/orta şiddette KOAH alevlenmeleri olan hastalarda, stabil KOAH hastalarına kıyasla, bronşiyal mukozalarında artmış sayıda eozinofil bulunur ayrıca CCL5 (RANTES), nötrofiller, T lenfositler, çok geç antijen (VLA)-1 ve TNF-α için mRNA artışı gösterilmiştir. Artmış eotaksin-1 ve CCR3 kemokin reseptör ekspresyonu da bildirilmiştir. KOAH'ın şiddetli alevlenmeleri, stabil hastalıkla karşılaştırıldığında CXCL-5 (ENA-78), CXCL-8 (IL-8), CXCR-1 ve CXCR-2 için artan nötrofili ve epitelyal mRNA'nın yukarı regülasyonu ile ilişkilendirilmiştir. Bu nedenle, farklı inflamatuar hücreleri içeren toplam inflamasyon, KOAH alevlenmeleri sırasında önemli ölçüde artar. Bununla birlikte, eozinofillerin varlığı geçici olduğundan ve sıklıkla kapiller damarlarla sınırlı olduğundan hafif/orta şiddette

KOAH'ta alevlenmeler sırasında gözlenen eozinofili astımda bildirilenden farklıdır (Barnes, 2014; Hogg ve Timens, 2009). Küçük hava yollarında KOAH'ın immünopatolojisine ilişkin çalışmaların hemen hemen tümünün stabil koşullarda elde edilen örnekler üzerinde yapılmış olması şaşırtıcı değildir. KOAH alevlenmeleri sırasında küçük hava yollarının patolojisine ilişkin en büyük çalışma, KOAH'tan ölümün hem amfizem hem de küçük hava yolu inflamasyonu ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Nagai, vd., 1985). Deneysel rinovirüs enfeksiyonunun KOAH hastalarında alevlenmeye neden olabileceği gösterilmiştir. KOAH hastalarında, astımlı ve normal gönüllülerde yapılan önceki çalışmalarda kullanılandan 100 ila 1000 kat daha düşük dozda virüsle soğuk algınlığı solunum semptomları ve alevlenmeler geliştiği ve soğuk algınlığı semptomlarının zirvesi ile düşük semptomların zirvesi arasında 3 ila 4 günlük bir boşluk olduğu tespit edilmiş olduğu bazı çalışmalarda gösterilmiş (Hewitt, vd., 2016). İlginç bir şekilde, normal akciğer fonksiyonuna sahip sigara içenlerden farklı olarak, deneysel enfeksiyonu takiben KOAH hastalarında balgam nötrofilleri önemli ölçüde artmış olduğu tespit edilmiştir. BAL CD3+ ve CD8+ T hücreleri, başlangıca kıyasla KOAH hastalarında enfeksiyon sonrası artış göstermiştir ve BAL IL-27 ve IL-10 seviyeleri de artar ve CD3+ T hücreleri virüs yükü ile koreledir (Hewitt, vd., 2016). Ayrıca KOAH hastalarında hava yolu inflamasyonunda ve oksidatif ve nitrozatif stres belirteçlerinde virüs yükü ile ilişkili önemli artışlar vardı. Alevlenme sırasında balgam makrofaj HDAC2 aktivitesi pre-enfeksiyon balgam virüs yükü ve inflamatuar yapıcılar ile ters ilişkili olduğu çalışmalarda tespit edilmiş. Sekonder bakteriyel enfeksiyon, özellikle Haemophilus influenzae, rinovirüs enfeksiyonundan sonra KOAH'lı hastaların %60'ında saptanırken, bu oran sağlıklı sigara içenler ve içmeyenlerde %10'dur. Akciğer mikrobiyomunun KOAH'ın immünopatolojisindeki rolü bilinmemektedir, ancak stabil KOAH'lı hastalarda bronşiyal mukozanın bakteriyel yükü hava yolu enflamasyonunun yoğunluğu ve hastalığın ilerlemesi ile ilişkilidir. Kronik bakteriyel kolonizasyon, örneğin bronşiyal epitel hücrelerinin yüzeyinde ICAM-1 ekspresyonunu artırarak KOAH hastalarının viral enfeksiyona duyarlılığının artmasına katkıda bulunabilir (Sajjan, vd., 2006).

2.1.5. KOAH Immunopatolojisinde Triptofan Rolü

Triptofan, çok sayıda hücre tipinde çoklu biyosentetik yollarla metabolize edilen esansiyel bir amino asittir. Ek olarak, triptofanın mikrobiyal metabolizması, mikrobiyomun triptofan metabolizmasındaki rolünü vurgulayan bir dizi aşağı yönlü metabolit üretebilir. Triptofan ve metabolitleri, inflamatuar ve solunum yolu hastalıklarında incelenmiştir ve enfeksiyonlar sırasında immün reaksiyonun bir parçası olarak değiştiği bulunmuştur. Triptofan yıkımı iki ana yolla gerçekleşir; Triptofanın ~%95'i kinurenin yolu ile metabolize edilir ve geri kalan ~%5'i serotonin yolu yoluyla metabolize edilir. İndolamin 2,3-dioksijenaz (IDO), kinurenin yolundaki hız sınırlayıcı enzimdir. Serotonin yolu, triptofan hidroksilaz (TPH) tarafından katalize edilir ve ayrıca monoamin oksidaz (MAO) tarafından metabolize edilir. IDO ayrıca katalitik sürecinde hem substrat hem de kofaktör olarak süperoksit anyonlarını kullanarak oksidatif stresi baskılayabilirken T-hücre proliferasyonunu inhibe edebilir. IDO, KOAH'ta çalışılmıştır ve IDO'yu hedef alan terapötiklerin KOAH semptomlarını iyileştirdiği gösterilmiştir. Son bulgular, KOAH'ın patogenezinde serotoninin rol oynadığını düşündürmüştür; serotonin pulmoner vazokonstriksiyon ve bronkokonstriksiyonda önemli bir rol oynar. Ayrıca, sigara dumanının MAO'yu inhibe ettiği ve serotonin düzeylerinin yükselmesine yol açtığı gösterilmiştir (Wheelock, vd., 2019).

Serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT), esas olarak periferik aktif bağırsak pigment hücreleri, mast hücreleri ve trombositler tarafından üretilen bir nörotransmiterdir. Şimdiye kadar yedi serotonin reseptörü (5-HTR1-7) tanımlanmıştır. Bir dizi çalışma, 5-HT reseptörü 2A (5-HTR2A) ve 5-HT reseptörü 2B'nin (5-HTR2B) akciğerde önemli roller sergilediğini ve 5-HT'nin 5'i aktive ederek kan damarlarının ve bronşların aktivitesini düzenlediğini bulmuştur. Ek olarak, serumdaki serbest serotonin seviyesi, astımlı hastalarda klinik şiddet ve akciğer fonksiyonundaki düşüşün derecesi ile yakından ilişkilidir. Bununla birlikte, az sayıda çalışma serotonin ve KOAH arasındaki ilişkiyi araştırmıştır (T. Yang, vd., 2020).

Serotonin ve reseptörünün KOAH patogenezindeki rolü araştırmalarında pulmoner fonksiyonda inflamatuar bir mediatör olarak önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Bir KOAH kemirgen modelinde, simvastatin tedavisi serotonin düzeylerini düşürmüştür, bu da serotoninin KOAH ile ilişkili enflamasyon üzerinde bir etkisi olduğunu düşündürmektedir. Bazı çalışmalarda kandaki serotonin seviyesinin her iki cinsiyet için de yaşla negatif ilişkili olduğu ve osteokalsin (kemik oluşumuyla ilişkili kolajen olmayan protein) ile pozitif olarak ilişkili olduğu gösterilmiştir, ancak sadece genç kadınlarda; hiçbir hormonal ilişki gözlenmemiştir (Wheelock, vd., 2019) .

2.2. Oksidatif Stresin Pulmoner Etkileri

Astım ve Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH) genellikle farklıdır; ancak bu akciğer hastalıkları örtüşen özelliklere sahiptir. Hava yollarının inflamatuar hastalıklarıdır ve hem astım hem de KOAH'ın iki ortak özelliği vardır: iltihaplanma ve hava yolu tıkanıklığı. Astım ve KOAH'ta inflamasyondaki artış, hem yapısal hücrelerin (epitel hücreleri, fibroblast, vb.) hem de infiltre edici hücrelerin (eozinofiller, nötrofiller, lenfositler, vb.) normal aktivitesinin aktivasyonu ve değiştirilmesi yoluyla gerçekleşir. Bununla birlikte, bu hastalıkların her birinde inflamatuar yanıtın düzenlendiği kesin mekanizmalar açık değildir. Alerjen, sigara dumanı veya kirleticiler gibi çevresel faktörler, oksidatif stresin (OS) hücresel ve moleküler mekanizmalarını etkileyen kronik enflamatuvar akciğer hastalıklarının kökenini yönlendirebilir. Bu senaryoda, OS tarafından düzenlenen hücresel ve moleküler mekanizmaların araştırılması, şiddetli astım ve KOAH gibi akciğerin kronik inflamatuar hastalıklarında inflamasyonun anlaşılması için faydalı yeni farmakolojik tedaviler geliştirmek için faydalı olabilir (Albano, vd., 2022).

Prooksidatif ve antioksidatif süreçler arasındaki bir dengesizlik, hava yolu inflamasyonunda hücre işletim sistemini tanımlar. Enzimatik ve enzimatik olmayan yollar, reaktif oksidatif türler (ROS) ve OS ile ilgili bileşikler üretir ve hava yollarının hücre ve dokularının aktivitelerini etkiler. Bu nedenle OS, prooksidanların üretimi, inflamatuar

hücrelerin hava yolu infiltrasyonu, metabolik düzensizlik ve azalmış antioksidan seviyeleri gibi çok çeşitli olumsuz biyolojik etkilerle bağlantılı dinamik ve sürekli bir süreçtir. Bununla birlikte, akciğerin adaptif tepkiler ve inflamasyonun çözülmesi ile ilişkili aşırı derecede OS'yi önlemek için çeşitli mekanizmaları vardır. Hava yolunda artan OS seviyeleri, hastalığın daha yüksek hastalık şiddetine doğru ilerlemesini teşvik ederek akciğer fonksiyonuna zarar verir ve hastalığın tedavisinde kullanılan geleneksel ilaca verilen cevaba yetersiz yanıtlara neden olur. Ancak çoğu zaman inflamatuar hava yolu hastalıklarının ek bir ilaç olarak bir antioksidan ile tedavisi hastaların refahını sağlamak için yeterli olmamaktadır. Bununla birlikte, bireysel ve çevresel risk faktörlerini dikkate alan bir yaklaşımla, antioksidanların terapötik etkisi astım ve KOAH tedavisinde kullanılabilir (Albano, vd., 2022).

2.2.1. Oksidatif Stres Mekanizması

OS'nin tanımı, "redoks devrelerinin düzensizliği ve makromoleküler hasar ile birlikte pro-oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki bir dengesizliği" şeklindedir (Patel, 2016). OS, sözde reaktif oksijen türlerinin (ROS), reaktif nitrojen türlerinin (RNS), reaktif lipid türlerinin ve serbest radikallerin reaksiyonlarının kimyasını içerir. ROS ve RNS, kısmen indirgenmiş ve yüksek reaktivite ve oksitleme kapasitesine sahip oksijen ve nitrojen metabolitleridir. ROS ve RNS, süperoksit radikalleri (O2-), hidroksil radikalleri (OH) ve nitrik oksit (NO) radikalleri gibi serbest radikallerin yanı sıra hidrojen peroksit (H2O2) ve peroksinitrit (ONOO) gibi serbest olmayan radikallerden oluşur. Serbest radikal, değerlik kabuğunda eşlenmemiş bir elektron bulunan, son derece kararsız ve reaktif, hücresel biyomoleküllerle (proteinler, lipidler, DNA ve karbonhidratlar) etkileşime giren ve onlara zarar veren kimyasal bir türdür. NO, epitel hücreleri tarafından da salgılanan lipofilik gazlı bir vericidir (Dröge Wulf, 2002).

ROS, hücresel sinyalleşmeyi ve uzun süreli homeostazı sağlamak için normal hücreler tarafından düşük konsantrasyonlarda üretilir. ROS ve RNS, düşük veya yüksek

konsantrasyonlarda bulunmalarına bağlı olarak ikili bir işleve sahip olabilir. İlk durumda, fagositoz, vazodilatasyon, doku onarımı ve rejenerasyon gibi bazı normal fizyolojik süreçleri düzenleyerek redoks hücre sinyallemesine dahil olurlar (Bernard, vd., 2014). Öte yandan, yüksek konsantrasyonlarda, inflamatuar hastalıkların (solunum yolu hastalıkları ve kanser gibi) başlamasına neden olabilecek hücre ve doku hasarının başlamasına neden olurlar. Akciğerlerde iki ROS ve RNS kaynağı vardır: serbest radikaller üreten hücreler tarafından temsil edilen endojen bir kaynak ve ana temsilcileri atmosferik partikül madde ve sigara dumanı olan eksojen bir kaynak. Genel olarak, ROS/RNS, başta plazma zarı, sitozol, mitokondri, peroksizomlar ve endoplazmik retikulum olmak üzere farklı organellerde lokalize enzimler tarafından katalize edilen ara ürünler veya hücresel metabolizma ürünleri olarak üretilir (Di Meo, vd., 2016).

Akciğerlerde ROS/RNS üreten anahtar enzimler arasında NADPH oksidaz, miyeloperoksidaz (MPO), ksantin oksidaz ve NO sentaz (NOS) bulunur. NADPH oksidazlar (NOX), oksijeni süperoksite indirgemek için elektronları biyolojik zarlar boyunca taşıyan çok bileşenli bir transmembran enzim kompleksi sınıfıdır. NOX'in yedi izoformu vardır—(NOX-1, NOX-2, NOX-3, NOX-4, NOX-5, Çift oksidazlar (DUOX)-1 ve -2). Birçoğu insan akciğerinin çeşitli hücre tiplerinde eksprese edilir. NOX-2, fagositize edilmiş bakterileri öldürmek için ROS üreten, enfeksiyon bölgesinde işe alınan bağışıklık sistemlerinin ilk hücreleri olan makrofajların ve nötrofillerin fagozomunda lokalizedir (van der Vliet, 2008).

Miyeloperoksidaz (MPO), heme peroksidaz ailesine aittir ve nötrofiller ve makrofajlarda bol miktarda eksprese edilir. Hidrojen peroksit (H2O2) ve klorür (Cl-) kullanarak zararlı bir reaktif oksijen türü (ROS) olan hipokloröz asit (HOCl) üretir ve bu nedenle bakteri, virüs ve mantarlara karşı konak savunmasında önemli bir enzimdir. HOCl ve diğer reaktif oksidanların MPO tarafından üretilmesi de dokulara zarar verebilir. MPO'nun indüklediği klorotirozin kalıntılarının oluşumu, nötrofilik inflamasyonun bir belirteci olarak kullanılır. Ek olarak, MPO bir substrat olarak NO ve nitriti kullanır ve

protein nitrasyonu, lipid peroksidasyonu ve nitrotirozin veren tirozinin oksidasyonu yoluyla enflamatuar hastalığa katkıda bulunan bir post-translasyonel modifikasyonu indükleyen nitrojen dioksit (NO2) oluşumuna yol açar (Davies ve Hawkins, 2020).

ROS üreten kimyasal reaksiyonları katalize eden diğer enzimler, plazma zarında lokalize olan ksantin oksidaz (XO) ve normoksi altında hipoksantin'in ksantine ve ürik aside oksidasyonunu katalize eden sitosoldür; ancak hipoksik koşullar altında adenozin trifosfattan hipoksantin oluşur ve oksijen hidrojen peroksit ve süperoksit anyonuna indirgenir (Battelli, vd., 2016).

Lipoksijenazlar (LOX'ler), hidroperoksieikosatetraenoik asitler (HPETE'ler); siklooksijenazlar (COX'ler), membran fosfolipidlerinden araşidonik asit (AA) salan ve AA'nın prostanoidlere dönüşümünü katalize eden iki işlevli enzimlerdir (hem COX hem de peroksidaz aktivitelerine sahip); ve nitrik oksit sentaz (NOS), L-arginin'in sitrulin ve nitrik okside (NO) oksidasyonunu katalize eden heme içeren bir monooksijenazdır. Ayrıca NO, vazodilatasyon ve enflamatuar süreçleri içeren çoklu biyolojik süreçlerde ve çeşitli hava yollarının mukosiliyer fonksiyon ve siliyer frekans gibi epitelyal fizyolojik fonksiyonlarında, enflamatuar mediatörlerin salınmasıyla inflamasyonun modülasyonunda ve bronşiyal epitel bariyer bütünlüğünde yer alır. NOS'un üç izoformu vardır: NOS1 (nöronal NOS, nNOS), NOS2 (endotelyal NOS, eNOS) ve NOS3 (uyarılabilir NOS, iNOS). Pulmoner hücreler yapısal olarak NOS1 (nöronlar ve endotel hücrelerinde) ve NOS2'yi (insan hava yolu epiteli, akciğer endoteli ve alveolar makrofajlarda) eksprese ederken, NOS3 (bronşiolar epitel hücreleri ve endotelde) inflamasyon sırasında akciğerde yükselir. NOS, l-arjinin, moleküler oksijen (O2) ve NADPH türevi elektronların nitrik oksit (NO) ve l-sitruline dönüşümünü katalize eder. Bununla birlikte, bazı koşullar altında NOS, bunun yerine O2'nin süperoksite (O2-) indirgenmesini katalize eder, bu genellikle ayrışma olarak adlandırılan bir olgudur (Bayarri, vd., 2021).

2.2.2. ROS Enflamasyonu ve Otofaji/Mitofaji Süreçleri

ROS'un çeşitli sinyal yolları ve mekanizmaları üzerinde etkileri vardır. Büyüme faktörlerine ve sitokinlere yanıt olarak, enflamatuar süreçler ve tümörijenez dahil olmak üzere çeşitli patogenetik mekanizmaların gelişimi ile ilişkili çeşitli hücre işlemlerini etkilerler. ROS, DNA hasarı, bağışıklık yanıtı, bağışıklıktan kaçınma, otofajinin kontrolünde yer alan sinyal yolu düzenlemesi ve apoptoz, anjiyogenez ve ilaç direnci oluşturur. Yoğun ROS üretimi, tümör mikroçevresini (TME) değiştirebilen iltihaplanma durumuna yol açarak, DNA hasarının yanı sıra büyüme faktörlerinin, sitokinlerin ve hücre sağkalımında yer alan genlerin düzenlenmesini teşvik ederek, çeşitli sinyal yolları ve mekanizmaları üzerindeki etkilerinin altını çizer (García-Sánchez, vd., 2020). Büyüme faktörlerine ve sitokinlere yanıt olarak, ROS, gen ekspresyonu için düzenleyici moleküllerin yanı sıra spesifik sinyal yolları için ikincil haberciler olarak hareket edebilir. Akciğer bozukluklarının çoğunda, ROS fazlalığının birincil kaynağı mitokondrilerdir. Mitokondri tarafından üretilen süperoksit, I ila IV olarak etiketlenmiş proteinlerden oluşan dört kompleks tarafından temsil edilen bir mitokondriyal solunum zinciri tarafından elektronların sızması nedeniyle oksijenin suya eksik indirgenmesinin bir sonucudur: Solunum kompleksleri I (NADH: ubikinon oksidoredüktaz) , II (süksinat-koenzim Q redüktaz), III (ubikinol:sitokrom c oksidoredüktaz) ve kompleks IV (sitokrom c oksidaz) (Sena ve Chandel, 2012). Mitokondriyal elektron taşıma zincirinde, elektronlar ubikinon yoluyla Kompleks I veya Kompleks II'den Kompleks III'e geçirilir ve bu elektronların bir kısmı kaçabilir ve süperoksit oluşturmak için oksijenle reaksiyona girebilir. Süperoksit, daha sonra mitokondriden çıkabilen enzimlerin süperoksit dismutazı yoluyla hidrojen peroksite dönüşebilir. Sitoplazmada, sitokrom P450 enzim ailesi (CYP) gibi metabolizma reaksiyonları ROS üretir (Sena ve Chandel, 2012).

Mitokondri aynı zamanda, ATP'nin çoğunun oksidatif fosforilasyon (OXPHOS) yoluyla üretildiği hücreler içindeki temel organellerdir. Mitokondriyal ROS (MtROS), enflamatuar kaspazları (kaspaz-1 ve -12) aktive etmek ve tümörün ilerlemesini

desteklemek için hipoksi ile indüklenebilir faktör-1 (HIF-1), NF-kB ve pro-enflamatuar sitokinler gibi redoks duyarlı transkripsiyon faktörlerini uyarır. Bahsedildiği gibi, ROS üretiminin ana bölgeleri, otofaji mekanizmalarının düzenlenmesinin ana bölgesi olan mitokondridir. Otofaji, antioksidan hasara karşı ilk savunma hattında önemli bir rol oynar ve hücrelerdeki proteinleri ve organelleri ortadan kaldırarak ve geri dönüştürerek lizozomal yol yoluyla hücre homoeostazını düzenler. ROS, otofajiyi hem doğrudan hem de dolaylı olarak etkiler. Doğrudan düzenleme, anahtar proteinler Atg4, Atg5 ve Beclin'in otofajik işlevlerinde hasar gördüğünde gerçekleşir. Bunun yerine, dolaylı ROS düzenlemesi, JNK, p38 gibi otofajiyi indükleyebilen sinyal yollarının değiştirilmesini içerir. Ayrıca, ROS eylem aralığı, redoks sensörü nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktörün (Nrf2) doğrudan aktivasyonunu kapsar. Nrf2, antioksidan mekanizmaların, ilaç metabolizmasının ve anti-enflamatuar detoksifikasyonun kontrolünde yer alan birincil hücre hayatta kalma düzenleyicisidir ve kanserin ilerlemesini teşvik etmenin yanı sıra hücreleri OS ve DNA hasarından korur. Aslında, Nrf2 iki amaca hizmet eder: OS ve mitokondriyal disfonksiyonu geliştirerek inflamasyonu ve kanseri teşvik eder ve tümörleri ve inflamasyonu baskılamak için antioksidan sistemi güçlendirir (Yun ve Lee, 2018).

OS, Nrf2 tarafından düzenlenen antioksidanların ekspresyonunu indükleyen Nrf2 / Keap1 (Kelch Like ECH Associated Protein 1) ve SQSTMI / p62 yolları yoluyla azaltılır. p62 yolu, Keap1'e bağlanma afinitesini artırır ve sonuç olarak katalaz, glutatyon peroksidaz, peroksi-doksin ve glutatyon gibi antioksidan enzimleri aktive eden Nrf2'yi aktive eden seçici otofajiyi indükler. OS ayrıca, Nrf2 ifadesini düzenleyen bir enzim olan karbonil redüktaz 1 (CBR1) tarafından da düzenlenir. Bununla birlikte, Nrf2 hiperaktivasyonu, hem normal hem de malign hücreleri destekleyen ve onları OS'den koruyan bir ortam yaratabilir. Ayrıca, yükselmiş ROS varlığında, ATG5, ATG7 veya BECLIN1 gibi bazı otofaji genlerinin silinmesi, kronik OS, iltihaplanma ve doku hasarı yoluyla tümörün başlamasını ve ilerlemesini destekleyen kusurlu otofaji veya otofaji inhibisyonu oluşturur (Chavda, vd., 2022).

Yüksek ROS seviyeleri, mitokondriyal işlevi bozar ve sonuç olarak, mitofaji adı verilen bir süreç aracılığıyla kendi kendini ortadan kaldırma sinyalini tetikler. Mitofaji süreci, işlevsiz mitokondriyi lizozomlarla füzyon yoluyla uzaklaştırma ve enerji metabolizması stabilitesini koruyan mitokondri sayısını kontrol etme görevi görür (Chavda, vd., 2022). Varsayılan kinaz 1 (PINK1)/Parkin yolu aracılığıyla düzenlenen kromozom 10'da (PTEN) silinen fosfataz ve tensin homolojisinin aktivasyonu, ROS'un mitofaji mekanizmasını tetiklemesini sağlayabilir. Normal fizyolojik koşullar altında, hücresel prion proteini (PrPc), PINK1'i ubikuitin kinaz yoluyla bağlar ve mitokondriyal iç zara girerek onu bozar. Oksidatif stres altında, PINK1 (PTEN kaynaklı kinaz 1), hasarlı mitokondri için moleküler bir sensör görevi görebilir; PINK1, zarar görmüş mitokondrilerin temizlenmesinde yer alan Parkin ve muhtemelen Beclin1 ile etkileşimler yoluyla depolarize mitokondrilerin toplanmasını ve temizlenmesini kolaylaştırır. Her yerde bulunan mitokondri, lizozomlarla kaynaşan ve hidrolazlarla indirgenen mitofagozom oluşturmak üzere kapsüllenir (Li, vd., 2020).

2.2.3. KOAH’ta Oksidatif Stres

KOAH, geri dönüşümsüz hava yolu obstrüksiyonu ile ilişkili kronik inflamatuar bir hastalıktır. KOAH, mobilite sorunlarının ve mortalitenin en önemli nedenlerinden birini temsil eder. Aslında, muazzam insani ve sosyal maliyetlerle dünya çapında üçüncü önde gelen ölüm nedenidir. KOAH hastalarının enflamatuar süreçleri, doğuştan gelen yanıt dahil olmak üzere sadece "geleneksel" pro-enflamatuar yollar yoluyla değil, aynı zamanda pıhtılaşma yolları ve nörotransmitterlerin salınması yoluyla da aktive edilir ve güçlendirilir. Kronik enflamatuvar süreçler, doku yıkımını belirleyebilir ve fizyolojik onarım mekanizmalarına müdahale ederek doku mimari değişikliklerini destekleyerek solunum yetmezliğine yol açabilir (Albano, vd., 2022; Cosio, vd., 2009). Batı dünyasında KOAH'a neden olan en önemli etyolojik faktör, yanma ürünlerinin inhalasyonu ile sigara içimidir. Akciğerdeki OS kaynakları ayrıca gazları ve ultra ince partiküllü materyali ve endüstriyel ve araba kirliliğinden kaynaklanan nanopartiküllerin solunmasını içerir (Hogg, J. C.,

2004). Akciğer özellikle çevresel faktörler nedeniyle yaralanmaya maruz kalır; bununla birlikte, mitokondriyal solunum tarafından üretilen endojen OS'ye ve hava yollarındaki bakteriyel ve viral enfeksiyonlara karşı immünolojik ve inflamatuar yanıtlara da tabidir (Hogg, J. C., vd., 2004).

KOAH bir özellik olarak nötrofiliye sahiptir. Yaralanma veya enfeksiyon bölgelerine giden nötrofiller aktive edilir ve ROS ve NO üretimini artırarak ve ardından apoptoz geçirerek istilacı mikroorganizmaların etkili bir şekilde öldürülmesine izin veren sitotoksik ve proteolitik bir kokteylin salınmasını sağlar. Nötrofillerin aşırı alımı ve apoptotik nötrofillerin makrofajlar tarafından yetersiz temizlenmesi, yerleşik akciğer hücrelerini etkileyen lizozomal bileşenleri serbest bırakarak sekonder nekroza neden olabilir (Fox, vd., 2010). Bu, duyarlı bireylerde, lökotrien B4 (LTB4) ve interlökin (IL)-8 gibi inflamatuar mediatörlerin kalıcı olarak salınması ve nötrofillerin akciğerlere sürekli olarak alınması ve aktivasyonu ile kendi kendine devam eden endojen inflamasyon süreçlerini gösterir. Bu aktive hücrelerden proteazların, serbest radikallerin, sitokinlerin ve proinflamatuar mediatörlerin salınması, çevre dokuların harabiyetine, akciğer elastikiyetinin kaybına ve mukus hipersekresyonuna ve amfizeme yol açan KOAH hava yollarında kilit bir rol oynar (Russell, vd., 2002). Yukarıda açıklandığı gibi, OS, mitokondriyal solunum, hücre sinyali sırasında ve doku hasarına ve patojenlere yanıt olarak ortaya çıkan ROS gibi serbest radikallere maruz kalma, antioksidan savunmaları aşarsa ortaya çıkar. ROS'un neden olduğu potansiyel hasar hedefleri arasında DNA, proteinler ve lipitler bulunur. ROS akciğer hasarı ile KOAH'ın patogenezi arasındaki potansiyel ilişki için önemli teorik ve deneysel destek vardır. KOAH hastalarının akciğerlerinde OS varlığının değerlendirilmesi, çeşitli yöntemlerle değerlendirilmiştir ve sigara içmeyen sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında KOAH'ta oksidatif yükün arttığına dair açık kanıtlar vardır (Voynow, vd., 1999).

EBC (Exhaled Breath Condensate, Ekshale Edilen Nefes Kondensi) hava yollarında bulunan OS ürünlerini tanımlamak için kullanılan yararlı bir yöntemdir. Birkaç çalışma,

H2O2'nin KOAH hastalarının EBC'sinde sağlıklı kontrol deneklerine kıyasla önemli ölçüde arttığını ve hastalık alevlenmeleri sırasında H2O2 seviyelerinin daha da arttığını göstermiştir. İn vivo serbest radikallerin araşidonik asidi peroksidasyonundan oluşan izoprostanlar, EBC'de ölçülebilir ve KOAH'ta daha yüksek bulunmuştur. Yağ asidi peroksidasyonunun başka bir ürünü olan malondialdehit (MDA), sağlıklı kontrol deneklerine, astımlılara ve bronşektazili deneklere kıyasla KOAH hastalarının EBC'sinde önemli ölçüde artar. Ayrıca, MDA seviyeleri FEV1 ile ters korelasyon gösterir, bu da hastalığın ciddiyeti ile bir ilişki olduğunu düşündürür. Ek olarak, başka bir çalışmada, MDA'nın serum seviyeleri KOAH şiddeti ile koreledir (Paggiaro, vd., 2011).

İmmünohistokimya tekniğini kullanarak, KOAH hastalarının akciğerlerinin farklı hücresel bileşenlerinde OS'nin bazı ürünlerini belirlemek mümkündür. KOAH'ta ROS'un hücresel anahtar kaynakları nötrofiller, monositler/makrofajlar ve akciğer epitel hücreleri tarafından temsil edilir. Nötrofiller, KOAH'ta kilit efektör hücrelerdir. KOAH akciğerlerinde önemli ölçüde artarlar, hastalığın ciddiyeti ile ilişkilidir ve ürünlerinin hastalığın çeşitli immünopatolojik ve fonksiyonel özelliklerine neden olduğu gösterilmiştir. KOAH'tan gelen nötrofillerin spontan olarak ve stimülasyonu takiben artan miktarda ROS saldığı gösterilmiştir (Rahman, vd., 1996).

KOAH hastalarının akciğer epitel hücreleri birincil olarak eksojen OS'ye tabi tutulur, ancak aynı zamanda mitokondriyal solunumdan türetilen endojen OS ürünleri de üretir. Membranın NADPH oksidazları (NOX), ksantin/ksantin oksidaz sistemi ve nötrofillerden türetilen miyeloperoksidaz (MPO), hücresel sitoplazmada ROS üreten enzimlerdir. NOX, hücrelerde süperoksit anyonları üretir. Bunlar, NO varlığında hızla H2O2 ve hidroksil radikali veya peroksinitrit radikali olarak zararlı ROS türlerine dönüşen zayıf oksitleyici maddelerdir. Aktif nötrofillerden elde edilen MPO seviyeleri, KOAH hastalarının akciğerlerinde yükselir. KOAH hastalarının balgamında 3-klorotirozin oluşumuna katkıda bulunan hipokloröz asit, klorinat protein tirozin kalıntılarının üretimine neden olurlar. İlginç bir şekilde, hücre içi antioksidan savunmalar, pro-oksidatif etkileri

sınırlayarak sağlıklı deneklerin hava yollarındaki zararlı ROS türlerini ortadan kaldırabilir. Tersine, antioksidan savunma mekanizmaları KOAH'ta aşırı yüklenmiştir (Kirkham ve Barnes, 2013).

ROS üretimi, lipid peroksidasyonu ve şeker glikoksidasyonu ile reaktif karbonil üretimini etkiler. Sonuç, aldehitler ve protein karbonilasyonudur. Reaktif karbonillerin oluşumu ve akabinde protein karbonilasyonu nedeniyle ortaya çıkan "karbonil stresi", hava yollarında yaş ve kronik hastalıklar ile ilişkilendirilerek hücre ve doku mekanizması işlev bozukluklarına yol açar. Hem sigara içenlerde hem de KOAH hastalarında mevcuttur ve hastalığın ciddiyeti ile ilişkilidir. KOAH hastalarında yüksek XO seviyeleri tespit edilmiştir ve KOAH hastalarının bronşiyal mukozal astar sıvısındaki sitokin ekspresyon seviyeleri ile iyi korelasyon gösterir (Negre-Salvayre, vd., 2008).

Artan işletim sistemi, akciğerlerde farklı etkileri olan çeşitli KOAH patofizyoloji mekanizmalarını yönlendirir. İnflamatuar kaskadlar OS'ye duyarlıdır. Ras/Rac, Jun-N-terminal kinaz (JNK), p38 mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK), transkripsiyon faktörü nükleer faktör-κB (NF-κB) ve tirozin fosfatazlar gibi sinyal protein molekülleri olarak redoksa duyarlı moleküler hedefleri içerirler. KOAH hastalarından alınan periferik kan hücreleri üzerinde yapılan bir in vitro çalışmada, antioksidan GSH (L-Glutatyon azaltılmış) ile tedavi, IkB Kinaz/NF-kB yolu aktivasyonunu azaltmıştır (Kirkham ve Barnes, 2013).

OS, TGF-β sinyal yolunu aktive eder ve küçük hava yolu fibrozunu destekler. Bu, Nrf2 sinyallerinin inhibisyonu yoluyla akciğerdeki endojen antioksidan aktivitelerin azalmasının sonucudur. OS, birincil olarak elastin degradasyonu ve kollajen hidrolizasyonunda yer alan bir enzim olan MMP9'un ekspresyonunu ve a1-antitripsin ve sekretuar lökoproteaz inhibitörünün oksidatif inaktivasyonu yoluyla elastolizi güçlendiren akciğer amfizemini arttırır (Taggart, vd., 2000).

Kortikosteroidler, OS inhibisyonunun bir sonucu olarak KOAH hastalarında bozulan proinflamatuar belirteçlerin gen ekspresyonunu, inflamatuar gen supresyonunda yer alan histon deasetilaz-2 (HDAC2) aktivitesinin azalması yoluyla kontrol eder. HDAC2 işlevi, fosfoinositid-3-kinazın (PI3K)-δ OS aktivasyonu ile azalır, bu da HDAC2'nin fosforilasyonuna ve her yerde bulunmasına ve peroksinitrit oluşumuna yol açar. Bu, artmış inflamasyon ve kortikosteroid direnci ile sonuçlanır. Şu anda, KOAH ilerlemesini önleyen klinik olarak mevcut hiçbir tedavi yoktur. Tartışıldığı gibi OS, KOAH'ın kronik enflamasyonu, hastalık ilerlemesi ve alevlenmeleri için ana itici mekanizmadır ve kortikosteroid direncini indükler, bu nedenle gelecekte önemli terapötik strateji geliştirmek için OS'yi hedeflemek çok önemlidir. Bu kavramlara dayanarak, hastalığın erken aşamalarında OS ile ilişkili önleme ve teşhis ve tedavi stratejileri hakkındaki bilgilerimizi geliştirmek gereklidir (Thomson, 2018).

2.2.4. Hava Yollarında Çevre Kirliliği ve OS

Çevre kirliliği, insan faaliyetlerinin (endüstriyel emisyonlar, evsel ısınma, araç trafiği) ve doğal olayların (örn. volkanik patlama) yanma süreçlerinden kaynaklanmaktadır. Havada kirletici olarak bulunan parçacıklar, atmosferde bulunan farklı kimyasal ve fiziksel özelliklere sahip bir dizi sıvı veya katı parçacıktır. Kaynak, boyut, üretim mekanizmaları ve kimyasal yapı, kirleticilerin farklı özelliklerini oluşturur. Ozon (O3), kükürt dioksit (SO2), nitrik oksit (NO), nitrit (NO2), karbon monoksit (CO), karbon dioksit (CO2) gibi gazlar veya benzen, partikül madde (PM), metaller, nitratlar, sülfatlar, organik karbon, mikrobiyal gibi uçucu organik bileşikler bileşenler ve polen havada bulunur. Kirleticilerin boyutu ve kimyasal bileşimi, çevre kirliliğinin insan sağlığı üzerindeki etkisini etkiler (Stanaway, vd., 2018).

Hava kirliliği dünya çapında insan sağlığı üzerinde hem akut hem de uzun vadeli etkiler oluşturmaktadır. Yetişkin ve çocuk hastalar, hava kirleticilerini solunum yolu ve cilt yoluyla emer ve daha sonra kan dolaşımına ulaşarak insan organlarını hedef alır ve insan sağlığına zarar verir. Hava kirliliği, kardiyovasküler hastalıklar, inme, demans, diyabet,

astım, KOAH, alt pulmoner enfeksiyonlar ve pulmoner tümörlere sebep olarak daha büyük erken ölüm riski ile ilişkili bulunmuştur. (Watson, 2006).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO), PM'ler, SO2, O3 ve NO2 seviyelerinin birçok şehrin ulusal standart ve kriter konsantrasyonundan daha yüksek olduğunu bildirmektedir. Yüksek konsantrasyonda partiküller ve toksik bileşikler, insanların pulmoner fonksiyonlarını önemli ölçüde bozar ve sonuç olarak solunum bozukluklarına ve hatta ölüme neden olur. Dolayısıyla, hava kirleticilerine uzun süreli maruz kalma yetişkinlerde, çocuklarda ve ergenlerde solunum yolu hastalıklarını etkiler. Çevresel kontaminasyon, insan vücudunun bağışıklık yanıtını zayıflatır ve akciğerin savunma mekanizmalarına müdahale eder. Son olarak, yüzen aerosol partikülleri tarafından taşınan ve akciğerin derinlerine iletilen hava kirleticiler, alveolar duvarda lif hiperplazisine neden olarak, akciğer fibrozunu ve KOAH süreçlerinde yer alan amfizemi teşvik eder (Salazar ve Herrera, 2011).

Çok faktörlü solunum hastalıkları, hava kontaminasyonuna bağlı hücrelerin OS'si dahil olmak üzere çeşitli risk faktörlerine sahiptir. Hava kirliliği akciğer, damar ve kalp dokusunda inflamasyona bağlı kaskadı ve oksidasyon stresini arttırır. Başlangıçta, hücre öldürmeyi aktive etmek için ROS üretimi ile zararlı uyaranların uzaklaştırılmasında yer alan koruyucu bir mekanizma olarak akciğerde OS mekanizmaları artar. Ayrıca, inflamasyonun erken fazında, OS mekanizmaları, hücre hasarı olmadan antioksidan gen stresinin transkripsiyonunu indükler. PM10, akciğer epitel hücrelerinde ve alveolar makrofajlarda enflamatuar mediatörlerin ve OS belirteçlerinin üretimini etkiler. Akciğerde salınan sitokinler ve kemokinler kemik iliğine ulaşır ve nötrofil öncüllerinin kan dolaşımına geçişini uyarır (Y. G. Lee, vd., 2021).

PM, NO2 ve SO2, lipidler ve proteinler üzerindeki doğrudan etkileri yoluyla veya hücre içi oksidan yolakların aktivasyonu yoluyla dolaylı olarak güçlü oksidanlardır ve oldukça reaktif hidroksil radikallerinin üretimiyle oksidatif DNA hasarını başlatırlar. PM10, PM2.5 ve SO2, akciğer fonksiyonu üzerinde kısa ve uzun vadeli etkilere neden olur

ve doğrudan oksidatif hasar gibi çeşitli mekanizmalar yoluyla hava yollarında enflamasyonu artırır. Bu şekilde solunum sisteminde, özellikle kardiyopulmoner sistemde olumsuz etki gösterirler (Stojić, vd., 2016)

Bir insan akciğer epitel hücre hattının PM10'a maruz kalması, ROS oluşumunu teşvik eder ve antioksidan enzimlerin (süperoksit dismutaz ve glutatyon redüktaz) aktivitesini azaltır. İnsan bronşiyal epitel hücrelerinin birincil kültürlerinin PM2.5'te adsorbe edilen PAH'a (polisiklik aromatik hidrokarbon) maruz kalması, uzun süreli bir enflamasyon durumunun devam etmesine neden olur ve yaralı dokularda onarım süreçlerini geciktiren OS mekanizmalarını etkiler. PM (0,25 ila 2,5 μm aralığında) ve O3, ekshale edilen NO ile pozitif olarak ilişkilidir. PM 0.25, CO ve NO, kayıtlı yaşlı deneklerde IL-6 ve ROS ile pozitif olarak ilişkilidir. Hem yakıt yanmasından (insanlarda mesleğe bağlı maruz kalma kaynağı) türetilen PM'nin bir bileşeni olan Vanadyum pentoksit (V2O5) hem de krom (VI) (PM2.5'te saptanabilir) insan lenfositlerinde oksidatif DNA hasarını etkiler (Sørensen, vd., 2005).

Benzo(a)pirene bağlı parçacıklar biyolojik olarak mevcuttur ve akciğer dahil olmak üzere hedef organlarda oksidatif DNA hasarına neden olur. Ayrıca, O3 ve NO2 genellikle havada bulunur ve akciğer dokusunda oksidatif stresi ve DNA hasarını artırır. Parçacık yüzeylerine adsorbe edilen organik bileşikler, CYP1A1 aracılı ROS üretimi yoluyla iltihaplanmayı teşvik eder ve insan hava yolu epitel hücrelerinde MAPK ve transkripsiyon faktörü NFkappaB'yi içeren transdüksiyon yollarının aktivasyonundan sonra sitokinlerin salınmasını destekler. PM maruziyetine yanıt NF-κB, aktivatör protein 1 (AP-1) ve CAATT/enhancer bağlayıcı protein (C/EBP), insan alveolar ve bronşiyal epitel hücrelerinde ROS üretimini ve proinflamatuar gen transkripsiyonunu (TNF-α ve IL-8, vb.) düzenler (Becker, vd., 2005).

Epidemiyolojik veriler, KOAH'ı olan hastaların O3 maruziyetine duyarlı olduğunu ve daha yüksek mortalite riskiyle birlikte artmış morbidite sergilediğini göstermektedir.

O3, solunum ve kardiyovasküler alevlenmelere neden olan toksik bir fotokimyasal hava kirleticidir. O3, akciğerin sıvı bölmesini kaplayan proteinleri ve lipidleri okside etme kapasitesine sahip, oldukça reaktif bir bileşiktir. O3 biyolojik dokularla reaksiyona girer ve akciğer fonksiyonuna zarar verme, solunum sistemini tahriş etme ve dokuları bozma gibi zararlı sağlık etkilerine neden olur. Son olarak ozon, KOAH hastalarında kronik enflamasyon ve amfizem mekanizmasını destekleyerek akciğerde OS'yi indükler (Brunekreef ve Hoffmann, 2016; Mudway ve Kelly, 2000).

Ağır metaller kadmiyum (Cd), kurşun (Pb), cıva (Hg), nikel (Ni), metaloid arsenik (As) ve geçiş metali kroma (Cr) çevresel maruziyet ve OS mekanizmalarının çeşitli organlarda aktivasyonu reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini indükler. Bu elementlerin, akciğer dahil olmak üzere düşük konsantrasyonlarda insan dokularına ve organlarına zarar verdiği bilinmektedir. Aslında, ağır metaller inflamasyon ve karsinojenisite dahil olmak üzere zararlı etkilerini sergilerler ve Nrf2 sinyali ile çeşitli hastalıklarda hava yolu epitel hücrelerinde ve organlarda oksidatif yanıtı etkilerler. Deneklerin ağır metallere maruz kalmasıyla akciğerdeki OS mekanizmalarının aktivasyonu, serbest radikaller üretir, antioksidan seviyelerini düşürür, DNA yapısını ve miRNA ekspresyonunu değiştirir; iyon kanallarını, ATP-azları ve diğer taşıyıcıları inhibe eder; hücre iskeletini ve hücre polaritesini arttırır; hatta hücre iletişim mekanizmalarını düzenleyen hava yolu hastalıklarında endositoz ve hücre içi vezikül geri dönüşümünü bozar (Albano, vd., 2022).

2.2.5. Hava Yolu Hastalıklarında Yeni Farmakolojik Yaklaşımlar: Antioksidanlar

Antioksidanlar, suda (hidrofilik) veya yağda (hidrofobik veya yağda çözünür) çözünürlüğe göre farklı kimyasal yapılara sahiptir. Genel olarak, sitozolde veya ekstraselüler matriste bulunan hidrofilik antioksidanlar, hücrelerde veya vücut sıvılarında (kan serumu, hücre dışı sıvı, seminal plazma) ROS ile reaksiyona girerken, yağda çözünen

antioksidanlar hücre zarlarında bulunur ve hücre zarlarını ROS aracılı lipid peroksidasyonundan korumaya daha yatkındır. Antioksidanlar; nükleofil, elektrofil, peroksit parçalayıcı, reaktif oksijen türev söndürücü, enzim inhibitörü, sinerjist ve metal şelatlayıcı ajan şeklinde görevler yapan "serbest radikal temizleyiciler" olarak tanımlanırlar (Valko, vd., 2006).

İnsan doğal antioksidan savunma sistemi iki kategoriye ayrılır: eksojen ve endojen (enzimatik ve enzimatik olmayan) antioksidanlar. Birinci sınıf, diyet ve hücre yenilenmesini uyararak içeriden serbest radikal hasarının onarımından elde edilir; ikinci sınıf vücudumuz tarafından yapılır ve hücre yenilenmesini başlatarak içeriden serbest radikal hasarını onarır. Endojen antioksidanlar aktivitelerine bağlı olarak enzimatik ve enzimatik olmayan olarak bilinirler. Endojen enzimatik antioksidanlar glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz, tioredoksin ve katalazdan oluşurken endojen enzimatik olmayan moleküller arasında melatonin, bilirubin, ürik asit, poliaminler ve glutatyon (GSH) bulunur. Öte yandan, enzimatik olmayan ekzojen antioksidanlar grubu, E, A ve C vitaminlerini, flavonoidleri, karotenoidleri, bitki polifenollerini, theaflavini, alil sülfitleri, selenyum ve kurkumini içerir. Enzimatik antioksidanlar demir, çinko, bakır ve manganez gibi kofaktörler tarafından oksitlenmiş metabolik ürünleri önce hidrojen peroksite (H2O2) sonra da suya dönüştürürler. Bunun yerine, enzimatik olmayan antioksidanlar, serbest radikal zincir reaksiyonlarını bloke ederek çalışır (Albano, vd., 2022; George ve Abrahamse, 2020).

Birçok çalışma, OS'nin aralarında kronik inflamatuar akciğer hastalığı bulunan birçok hastalıkta oldukça yaygın olduğunu ve aynı zamanda pulmoner vasküler kan kılcal damar ağı ile yakınlığı nedeniyle hastaların sistemik dolaşımında oldukça yaygın olduğunu göstermektedir. Akciğer, hem enzimatik hem de enzimatik olmayan sistemler dahil olmak üzere oksidan kaynaklı hasarı önlemek için yüksek düzeyde antioksidan kaynakları içerir. Son yıllarda, hava yolu hastalıklarının farmakolojik tedavisi olarak antioksidanların kullanımına olan ilgi artmıştır (Wang, vd., 2020).

Sıkı bir antioksidan ağı geliştirmek için enzimatik olmayan ve enzimatik antioksidanların aynı anda dikkate alınması gerekir. Hava yollarında, ilk savunma hattı, solunum epitelini kaplayan ince bir sıvı tabakası olan solunum yolu kaplama sıvısıdır (RTLF). RTLF, C vitamini, ürat, indirgenmiş glutatyon (GSH), E vitamini, bilirubin, hücre dışı süperoksit dis-mutaz (SOD), katalaz ve hücre dışı glutatyon peroksidazdan (GPx) oluşur ve solunan çevresel/endojen oksidanların neden olduğu oksidatif hasardan korur (Karamalakova, vd., 2022). Ek antioksidanlar arasında mukopolipeptit glikoproteinler, seruloplazmin ve Fe-bağlayıcı proteinler yer alır. Son zamanlarda, antioksidan savunma mekanizmalarında çok önemli bir rol oynayan diğer enzimler akciğerde bulundu: hem oksijenaz-1, tioredoksinler, peroksiredoksinler ve glutaredoksinler gibi küçük moleküler ağırlıklı redoks proteinleri. Birçok akciğer hastalığının patogenezinin oksidatif dengesizlik ve ROS üretimi tarafından indüklendiği bilinmektedir. ROS ve oksidatif dengesizlik, akciğerde terapötik stratejiler için terapötik hedefler olarak kullanılır (De Flora, vd., 2020).

Etki mekanizmasına dayanarak, üç grup antioksidan ilaç ayırt edebiliriz: (1) dönüşümü hızlandıran süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi endojen antioksidan enzimlerin güçlendiricileri ve serbest radikallerin etkisizleştirilmesi; (2) hücre zarını sağlam tutan, fazla serbest radikallerin ve lipid peroksil radikallerinin enzimatik olmayan temizleyicileri; ve (3) diğer mekanizmalara sahip ilaçlar. N-asetil sistein (NAC), (1) disülfit bağlarının indirgeyici, (2) reaktif oksijen türlerinin temizleyicisi ve/veya (3) glutatyon biyosentezinin öncüsü olarak işlev gören enzimatik bir antioksidan ilaçtır (De Flora, vd., 2020). NAC, artan hücre içi glutatyon üretimi için sistein sağlar. NAC, mukus proteinlerinin disülfit bağlarını hidrolize ederek viskozitesini azalttığı ve böylece klirensini ve akciğer sekresyonlarını kolaylaştırdığı için mukolitik bir ajan olarak kullanılır. NAC ayrıca reaktif elektrolitleri ve serbest radikalleri enzimatik olmayan bir şekilde doğrudan inaktive eder ve hücrelerde oksidan/antioksidan dengesini korur. Ayrıca NAC, IL-9 ve TNF-α gibi bazı proinflamatuar sitokinlerin oluşumunu azaltır. Uzun yıllar boyunca NAC'nin sadece mukolitik özelliklere sahip olduğuna inanılıyordu. Ancak sigara içenlerde ve inhale kortikosteroidlerle tedavi edilmeyen hastalarda daha yakın

zamanlarda bu antioksidanın bir anti-inflamatuar olarak olumlu etkileri olduğu gösterildi (Rahman ve MacNee, 2012).

Daha önce tanımladığımız gibi NOX, özellikle KOAH hastalarında önemli bir ROS kaynağıdır. Çeşitli NOX inhibitör ilaçları geliştirilmiştir ve bunlar solunum yolu hastalıklarında faydalı olabilir. Örnekler şunlardır: nebulizasyon yoluyla H2O2'yi ve KOAH hastalarının ekshalasyon nefesi kondensatındaki nitritleri azaltan aposinin; şu anda geliştirilmekte olan ve mükemmel tolere edilebilirlik ve çeşitli kronik inflamasyon belirteçlerini azalttığını gösteren bir NOX1/4 inhibitörü olan setanaxib (Moussa, vd., 2020).

Akciğerde diğer başlıca enzimik antioksidanlar süperoksit dismutazlar (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidazdır (GPx). Son zamanlarda, akciğer antioksidan savunma mekanizmalarında çok önemli bir rol oynayan diğer enzimler bulunmuştur: hem oksijenaz-1 ve tioredoksinler, peroksiredoksinler ve glutaredoksinler gibi küçük moleküler ağırlıklı redoks proteinleri (Albano, vd., 2022; Moussa, vd., 2020).

SOD tarafından dismutasyon, her hücre için birincil öneme sahiptir ve insan akciğerinde/kanında yaygın olarak ifade edilir. SOD enzimi, süperoksidi H2O2'ye dönüştürmeye yardımcı olur ve katalaz ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi enzimler onu metabolize eder. SOD üç çeşit formda bulunur: (1) Bakır çinko süperoksit dismutaz (Cu, Zn SOD) başlıca sitosolik bir enzimdir ve çoğu dokuda bol miktarda bulunur. Özellikle bronşiyal ve alveoler epitel hücrelerinde ve mezenkimal hücrelerde, fibroblastlarda ve endotel hücrelerinde yüksek oranda eksprese edilir; (2) manganez süperoksit dismutaz (MnSOD) temel olarak bir mitokondriyal enzimdir ve alveoler tip II epitel hücreleri ve alveolar makrofajlarda ifade edilir ve (3) hücre dışı süperoksit dismutaz (ECSOD) birincil olarak plazmada, hava yolu epitel hücrelerinde (AEC) ve alveolar makrofajlarda (AM) saptanan hücre dışı bir enzimdir (Yin. vd., 2018). Bazı araştırmalar, astım hastalarının bronş epitelinde, bronkoalveolar sıvıdaki hücrelerde ve bronşiyal fırçalamada SOD

aktivitesinin kontrol deneklerine kıyasla azaldığını göstermektedir. Yeni karakterize edilen SOD mimetiklerinin, hayvan modellerinde oksidanların neden olduğu akciğer bozuklukları için yararlı etkileri olduğu görülmektedir (Singh, vd., 2017).

CAT enzimi, oksijen kullanan birçok canlı dokuda bulunan bir antioksidandır. Kofaktör ve katalizör olarak demir veya manganez kullanır ve sudaki hidrojen peroksidi (H2O2) ve moleküler oksijeni azaltır. Böylece CAT enzimi, SOD'dan enzimatik olarak etkilenen dismutasyon reaksiyonunu tamamlar. Çalışmalar, metforminin AMP (AMPK) tarafından aktive edilen protein kinaz yoluyla CAT'nin gen ve enzimatik aktivitelerini iyileştirerek OS'yi azalttığını göstermektedir. AMPK aktivatörü, sigara dumanı ekstraktı ile uyarılan normal insan bronşiyal epitel hücrelerinin (NHBE) in vitro bir modelinde Nrf2 aktivasyonunu arttırdı, bu da ciddi KOAH'ta akciğer inflamatuar yanıtları üzerinde potansiyel koruyucu etkisi olduğunu düşündürür (Albano, vd., 2022; Andrade, vd., 2021).

Glutatyon peroksidaz (GPxs), oksidoredüktaz ailesine ait, hücreleri lipid peroksit ve H2O2'nin neden olduğu hasardan koruyan selenyum içeren önemli bir enzimdir. Astımı ve KOAH'ı olan kişilerde GPx aktivitesi önemli ölçüde azalır ve bu, bu kişilerin hem FEV1 değerleri hem de vücut kitle indeksi ile ilişkilidir. Bu mekanizmadan yararlanan bir antioksidan örneği, sigara dumanına maruz kalan farelerin akciğerlerinde enflamasyonu ve enflamatuvar sitokinlerin salınmasını azaltmada etkili olan bir GPx mimetiği görevi gören organik bir selenyum bileşiği olan Ebselen'dir . Astım veya KOAH'ta koruyucu rolüne dair henüz bir veri olmamasına rağmen, Ebselen sigara içimi ve KOAH ile ilişkili yaşamı tehdit eden pulmoner ve kardiyovasküler belirtilerin tedavisinde yeni bir yol sağlayabilir (Albano, vd., 2022; Cho, vd., 2006).

Antioksidan enzim savunma sistemleri (SOD, CAT, GPx, indirgenmiş glutatyon ve heme oksijenaz 1 dahil), İdiyopatik Pulmoner Fibrozis, astım, KOAH ve akut solunum sıkıntısı sendromu gibi akciğer hastalıklarında potansiyel bir terapötik hedef haline gelen Nrf2 tarafından doğrudan düzenlenir. Sulforaphane'nin (brokoli, lahana ve Brüksel

lahanasından ekstrakte edilen bir bileşik) bir Nrf2 aktivatörü olduğu bulundu; insan makrofajları veya fare modelleri üzerinde yapılan deneyler, KOAH alevlenmesini önleyici bir etkiye işaret etmektedir. Ayrıca, onkojenik EMT (epitelyal-mezenkimal geçiş) ile ilişkili çeşitli sinyal yollarını modüle eder. Klinik çalışmalar, IPF'li hastaların akciğerlerinde yüksek Nrf2 ekspresyonu olduğunu kanıtlamıştır, ancak bu verilerin daha büyük çalışmalarla daha fazla desteklenmesi gerekmektedir (Audousset, vd., 2021). C vitamini (askorbik asit), E vitamini (α-tokoferol), resveratrol ve flavonoidler gibi bir diyet antioksidanının alımı, solunum yolu hastalıklarında antioksidan tedaviler olarak önerilmektedir. Çeşitli epidemiyolojik çalışmalar, akciğer fonksiyonunun (FEV1 ve FVC açısından) diyette yüksek miktarda antioksidan alımı ile iyileştirildiğini ve bunun sonucunda kronik bronşit ve dispne prevalansının daha düşük olduğunu göstermektedir. Daha düşük antioksidan içerikli (düşük proteinler, yetersiz demir, kalsiyum, potasyum, çinko, folat, B6 vitamini, retinol alımı) bir diyet uygulayan KOAH'lı denekler (sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında), gelişmekte olan KOAH akciğer fonksiyonunda daha yüksek riskle birlikte bir azalma gösterir. Bleomisin, lipopolisakarit ve sigara dumanı tarafından indüklenen in vivo ve in vitro inflamasyon modelleri, bu bileşiklerin antioksidan ve antiinflamatuar özelliklerini göstermektedir. Ek olarak, bazı araştırmacılar, yüksek oranda alınan diyet antioksidanlarının akciğer hastalığının ilerlemesine karşı koruma sağladığını, ancak bu durumun sigara dumanına maruz kalan farelerde arttığını göstermektedir. Bu veriler, diyet takviyelerinin gelişigüzel kullanımının akciğer hastalıklarının tedavisi için bir risk olabileceğini düşündürmektedir. Örneğin, E vitamininin aşırı kullanımı KOAH hastalarında mortalitenin artmasına neden olur. OS, kinazları ve redoks-duyarlı transkripsiyon faktörlerini aktive ederek, kromatindeki epigenetik değişiklikleri modüle eder ve KOAH'ta genetik transkripsiyonda değişikliklere neden olur. KOAH ve astım patogenezinde ROS (doğrudan veya dolaylı olarak); JNK, MAPK, p38 ve PI3K gibi stres kinazlarının veya NF-κB, AP-1 ve Nrf2 gibi transkripsiyonel faktörlerin aktivasyonu yoluyla akciğerdeki enflamasyonu etkiler ve güçlendirir. Antioksidan ajanlar, çeşitli akciğer hastalıklarında bu hedefleri kontrol etmek için faydalı ilaç adaylarıdır (Albano, vd., 2022).

KOAH'ın farmakolojik tedavisi, oksijen ve oral veya inhale bronkodilatörlerin uygulanmasını içerir. Bunlar son olarak redoks dengesini etkileyerek semptomdan kurtulma sağlar, ancak çözümleyici değildir. OS, PI3K aktivasyonunu indükleyerek ve HDAC2'nin (histon deasetilaz 2) aktivitesini azaltarak KOAH'ın ana nedenlerinden biridir. HDAC2, kortikosteroidlerin etkisini değiştiren NF-κB ve AP-1 gibi proinflamatuar transkripsiyon faktörleri (TF'ler) ile doğrudan etkileşime girer. Aslında OS, örneğin KOAH'ta olduğu gibi steroid direncine katkıda bulunur. Bununla birlikte, kortikosteroidler birçok akciğer hastalığında kullanılan güçlü ve evrensel bir ilaç tedavisidir (Oakley ve Cidlowski, 2013).

Kortikosteroidlerin etkisi, glukokortikoid reseptörleri (GR) ile etkileşerek çekirdeğe yer değiştiren ve NF-kB ve AP-1 ekspresyonunu modüle eden bir kompleks oluşturdukça değişir. Normal koşullarda, HDAC2 GR'yi deasetilleyerek NF-kB yolunu baskılayan ve inflamasyonu azaltan bir protein-protein kompleksi oluşturur. Bu nedenle, HDAC2 ekspresyonundaki bir azalma GR'yi deasetillemez, bu da NF-kB yolunu baskılayamaz. Bu nedenle, OS'nin KOAH'ta steroid duyarsızlığının gelişimi ile yakından ilişkili olduğu düşünülmektedir. Hava yolu hastalıklarında steroid direncini baypas etmek için kullanılan bir strateji, HDAC2'yi aktive etmeyi ve astım ve KOAH tedavisi için olası bir terapötik prensibi temsil eden HDAC2'nin post-translasyonel oksidatif modifikasyonlarını tersine çevirmeyi içerir (Zwinderman, vd., 2019).

Fazla OS, hücreler ve dokular için toksik olabilir; normal hücreler tarafından sentezlenen hücresel homeostazın ve ROS'un sağlığı korumak için çok önemli olduğu doğrudur. Hava yolu hastalıklarında OS'nin artan aktivitesine ilişkin mevcut bilgiler, antioksidanların astım ve KOAH tedavisinde ilgili katkısını göstermektedir. Antioksidan kullanımı ayrıca, şiddetli astımı ve KOAH'ı olan hastalarda sıklıkla bulunan kortikosteroid direnci mekanizmasında, geleneksel tedavinin yardımcı maddesi olarak inflamasyonun çözülmesine de yardımcı olabilir. Bununla birlikte, antioksidanların farmakolojik manipülasyonu ve gerçekten etkili yeni ilaçların geliştirilmesi, kronik inflamatuar akciğer

hastalığının zorlu bağlamında bir rahatlama ışığı sağlayabilen ROS düzenleyici mekanizmalarını hedefler (Albano, vd., 2022).

OS mekanizmalarının hava yolu hastalıklarının patogenezinde yoğun bir şekilde rol oynadığını gösteren çok sayıda kanıt vardır. Aslında, akciğer sürekli olarak kirli havada bulunan veya enflamatuar süreçler sırasında hava yollarında toplanan ve aktive olan enflamatuar hücrelerden salınan harici oksidatif bileşiklere (sigara dumanı, alerjen, toksik maddeler, vb.) maruz kalır (Albano, vd., 2022).

Pek çok oksidatif bileşikle ilişkili bu karmaşıklık, KOAH hastalarının akciğerlerindeki OS mekanizmalarının aktivasyon seviyelerini saptamak için faydalı OS biyobelirteçlerinin yeterli standardizasyonunu engeller. Bu yönü, OS metabolitlerinin KOAH'ın kaynağına yol açan hava yolu hastalıklarının gelişimi veya ilerlemesindeki rolünü ve genel katkısını değerlendirmeyi ve tanımlamayı son derece zorlaştırır. Aslında, sıklıkla hava yolundaki OS biyobelirteçlerinin artan seviyeleri, hastalığın akciğer fonksiyonuna zarar veren daha yüksek hastalık şiddetine doğru ilerlemesini ve akciğerin kronik inflamatuar hastalıklarının tedavisinde kullanılan geleneksel ilaçlara yanıtı teşvik eder. Ancak çoğu zaman inflamatuar hava yolu hastalıklarının ek ilaç olarak antioksidanlarla tedavisi hastaların refahını sağlamak için yeterli olmamakta ve OS mekanizmaları alanındaki araştırmaların derinleştirilmesi gerekmektedir (Albano, vd., 2022)

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM
ARAŞTIRMA YÖNTEMİ/MATERYAL VE YÖNTEM

Prospektif ve vaka-kontrol olarak tasarlanan çalışmamıza Ardahan Devlet Hastanesi acil servisine başvuran 18 yaşından büyük, KOAH tanısı solunum fonksiyon testi ile kesinleşmiş ve çalışmaya dahil olma kriterlerini karşılayan toplam 82 katılımcı (45 KOAH tanılı hasta ve 37 KOAH tanısı olmayan gönüllü) alınmıştır. Çalışmaya alınma ölçütleri; KOAH tanısı olması ve onsekiz yaşından büyük olmasıdır. Çalışmaya dahil olmama kriterleri ise; 18 yaş altında olan, malignite öyküsü olan, COVID-19 tanısı olan veya COVID-19 şüpheli hastalar ve SSRI, SNRI, TCA veya MAO inhibitörü kullanan hastalar olarak belirlenmiştir.

Çalışma kapsamında katılımcıların yaşı, cinsiyeti, boyu, kilosu, sigara kullanımı, eğer sigara kullanıyorsa kaç paket/yıl kullandığı, kronik hastalıkları, kullandığı ilaçların arasında SSRI, SNRI, TCA veya MAOi olup olmadığı, hasta grubu için semptomlarının ağırlığı (mMRC skorlaması ile) ve hastaneye yatış öyküsü kayıt altına alınmıştır.

Hastalardan yazılı ve sözlü aydınlatılmış onam alındıktan sonra venöz ponksiyonla pıhtı aktivatörlü jelli tüplerin içine kan alınarak tüpler 10 dakika boyunca 4000 dakika devir sayısında santrifüj edildikten sonra serum, iki fraksiyon şeklinde eppendorf tüplere aktarılmış ve çalışılacağı güne dek -80 derece dolapta saklanmıştır. Serum numunelerinde serotonin, 8-deoksi 2-hidroksiguanozin (8-OHdG), Süperoksit dismutaz (SOD), Glutatyon peroksidaz (GPx) ve Lipitperoksidasyon (MDA) düzeyleri ile IL-4 ve IL-13 ekspresyon seviyeleri çalışılmıştır.

3.1. Biyokimyasal Analizler

Biyokimyasal analizlerde serotonin tayini için BT-Lab (EA0042Hu, Human 5-hydroxytryptamine, 5HT ELISA Kit, China), MDA tayini için BioVision (K739-100, Lipid Peroxidation (MDA) Colorimetric/Fluorometric Assay Kit, Milpitas, CA, USA), GPs tayini için Cayman Chemical (703102, Glutathion Peroxidase Assay Kit, Ann Arbor, MI, USA) ve 8-OH-dG tayini için BT-Lab (EA0048Hu, Human 8-OHdG ELISA Kit 96 Test, China) ve SOD tayini için BioVision (K335-100, Superoxide Dismutase (SOD) Activity Assay Kit , Milpitas, CA, USA) kitleri kullanılmıştır.

3.1.1. Serotonin ELISA

1. Açillenmiş standartlardan, kontrollerden ve numunelerden 25 µl, Serotonin Mikrotitre Striplerinin kuyucuklarına pipetlendi.

2. Tüm kuyucuklara 100 µl Serotonin Antiserumu pipetlendi.

3. Çalkalayıcıda (yaklaşık 600 rpm) RT'de (20 - 25°C) 30 dakika inkübe edildi.

4. Kuyucukların içeriğini atıldı veya aspire edildi. Plakaya 300 ml Yıkama Tamponu eklenerek 3 kez yıkandıktan sonra içerik atıldı ve her seferinde ters çevrilmiş plaka emici malzeme üzerine vurarak kurulandı.

5. Tüm kuyucuklara 100 µl Konjugat pipetlendi.

6. Çalkalayıcıda (yaklaşık 600 rpm) RT'de (20 - 25°C) 15 dakika inkübe edildi.

7. Kuyucukların içeriğini atıldı veya aspire edildi.

8. 300 ml Yıkama Tamponu eklendikten sonra, içeriği atarak ve her seferinde ters çevrilmiş plakayı emici malzeme üzerine vurarak kurutulan plaka 3 kez daha yıkandı.

S. Tüm kuyucuklara 100 µl Substrat pipetlendi.

9. Çalkalayıcıda (yaklaşık 600 rpm) RT'de (20 - 25°C) 15 dakika daha inkübe edildi.

10. Her bir kuyucuğa 100 µl Durdurma Solüsyonu eklendi ve homojen bir solüsyon dağılımı sağlamak için mikrotitre plakasını sallandı.

11. Kuyucuklardaki çözeltinin absorbansını 450 nm'ye ayarlanmış bir mikroplaka okuyucu kullanarak 10 dakika içinde okutuldu.

3.1.2. Glutatyon Peroksidaz Tayini

1. Arka Plan Kuyuları - üç kuyuya 70 µl Test Tamponu, 50 µl Yardımcı Substrat Karışımı ve 50 µl NADPH eklendi.

2. Pozitif Kontrol Kuyuları - üç kuyuya 50 µl Test Tamponu, 50 µl Yardımcı Substrat Karışımı, 50 µl NADPH ve 20 µl seyreltilmiş GPX (kontrol) eklendi.

3. Örnek Kuyuları - 50 µl Test Tamponu, 50 µl Yardımcı Substrat Karışımı, 50 µl NADPH ve üç kuyucuğa 20 µl numune. Tekrarlanabilir sonuçlar elde etmek için, kuyucuğa eklenen GPX miktarı absorbansı 0,02 ila 0,135/dak arasında azaltılmıştır. Gerektiğinde, enzimatik aktiviteyi bu seviyeye getirmek için numuneler Örnek Tamponu ile seyreltildi.

4. Kullanılan tüm kuyucuklara hızlı bir şekilde 20 µl Cumene Hydroperoxide ekleyerek reaksiyonlar başlatıldı.

5. Karıştırmak için plaka birkaç saniye sallandı.

6. En az 5 zaman noktası elde etmek için bir plaka okuyucu kullanarak 340 m'de her dakikada bir absorbansı okutuldu. Sonuçlar not edildi.

3.1.3. Superoksit Dismutaz Tayini

1. Her bir numune ve Boş 2 kuyucuğuna 20 µl Numune Çözeltisi ve 20 µl H2O eklendi.

2. Her bir kuyucuğa 200 µl WST Çalışma Solüsyonu eklendi.

3. Her bir Boş 2 ve Boş 3 kuyucuğuna 20 µl Seyreltme Tamponu eklendi.

4. Her bir numune ve Boş 1 kuyucuğuna çok kanallı bir pipet kullanılarak 20 ul Enzim Çalışma solüsyonu eklenip, iyice karıştırıldı.

5. Plakalar 20 dakika boyunca 37 °C'de inkübe edildi.

6. Bir mikroplaka okuyucu kullanarak 450 m'de absorbansı okundu ve SOD inhibisyon oranı hesaplandı.

3.1.4. Kolorimetrik Lipit Peroksidasyon Tayini

Standartları ve numuneyi içeren her şişeye 600 µl TBA reaktifi eklendi. 95°C'de 60 dakika boyunca inkübe edildi. Buz banyosunda 10 dakika boyunca oda sıcaklığına soğutuldu. 200 µl'yi (her 800 µl reaksiyon karışımından) analiz için 96 kuyulu bir mikroplakaya pipetlendi (Standart Eğriler Aralıkları: 0-1-2-3-4-5 nmol MDA/kuyu). Plazma için: 300 µl n-butanol ve 100 µl 5 M NaCl ile karıştırılıp vortekslendi. Santrifüj (3 dakika, 16.000 g, RT) sonrası üst katmanı (n-bütanol) saklandı. N-bütanol tabakasını yeni bir santrifüj tüpüne aktarıldı ve n-bütanolü çıkarıldı (n-bütanolü buharlaştırmak için 55 °C'de fırında kurutma). Kalan materyal 200 µl ddH2O içinde yeniden süspanse edildi. İyice karıştırıldı ve 96 kuyulu siyah bir plakaya 200 µl eklendi. 532 nm'de absorbansları kayıt edildi.

3.2. Genetik Analizler

Laboratuvar ölçümleri için hasta ve kontrol grubundan 2 cc EDTA'lı venöz kan alındı. Kan alımını takiben örnekler uygun devirde santrifüj edildikten sonra serum ve plazmalar ölçüm yapılacağı güne dek -80°C'de bekletildi. Gen ekspresyon seviyeleri, kantitatif RT-PCR (Ters transkripsiyon polimeraz zincir reaksiyonu) ile değerlendirildi. Hastalardan alınan kan örneklerinden toplam mRNA, Trizol metodu ile elde edildi. NanoDrop ND-1000 Spektrofotometre kullanılarak 260/280 absorbans oranına göre mRNA kalitesi ve miktarı belirlendi. Ters transkripsiyon, cDNA sentez kiti (HighCapacity cDNA Ters Transkripsiyon Kiti) kullanılarak yapıldı. Sentezlenen cDNA (tamamlayıcı DNA) örnekleri RT-PCR analizi için kullanıldı. Gen ekspresyon seviyeleri, Applied Biosystems™ TaqMan® Gen Expression (Thermo Fisher Scientific, ABD) kullanılarak RT-PCR (ABI StepOne) ile analiz edildi. Genlerin normalizasyonu için GAPDH kullanıldı.

Gen ifadeleri Ct değerleri kullanılarak belirlendi ve kat değişiklikleri 2− (ΔΔCT) yöntemi ile değerlendirildi. Il4, Il17 ve GAPDH için primer ID numaraları sırasıyla IL-4 Hs99999038_m1, IL-13 Hs9999909038_m1, IL-13 primeri çalışmadığı için bu gene ait analiz yapılamamıştır.

3.2.1. Total RNA İzolasyonu

Trizol yöntemi ile mRNA miktarları tespit edildi (Donald, vd., 2010). Tüpün içerisine 100 µl trizol ve 40 µl numune eklendi. 5 dk inkübe edildi. Daha sonra üzerine 100 µl kloroform eklenip 10 sn vortekslendi. 10 dk yeniden inkübasyona bırakıldı. 12 000 g'de 15 dk santrifüj edildilkten sonra en üst faz (süpernatant) yeni tüpe aktarıldı. 250 µl izopropanol eklendi. 10 dk inkübasyona bırakıldı. 4°C'de 10 dk 12 000 g'de santrifüj tekrarlandı. Tüpde süpernatant altında kalan pellet RNA içermektedir. Üst faz atıldı. Pellet üzerine 500 µl %75'lik alkol eklendi. Vortekslenerek, 4°C'de 10 dk 7500 g'de santrifüj gerçekleştirildi. Alt faz yeniden alındı ve en az yarım saat kurutuldu??? 50 µl RNAse free

su eklenerek 55 °C'de 10 dk inkübe edildi. Total RNA'ların kalite ve miktar tayini NanoDrop ND-1000 Spectrophotometer cihazı kullanılarak yapıldı ve sonrasında örnekler -80 °C'de saklandı.

3.2.2. cDNA Eldesi

İzole edilen RNA'lar çalışma yapılıncaya kadar -80ºC'de bekletildi (5 gün). Daha sonra spektrofotometre de ölçümü yapılan RNA'ların yoğunluğuna göre steril 0,2 ml' lik polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tüplerine konuldu. cDNA eldesi manuel olarak kit yardımıyla yapıldı (High Capacity cDNA Revere Transcription Kit, 200 reaction, ABD).

Total RNA örneklerinden cDNA eldesi işleminin yapılabilmesi için aşağıdaki protokol uygulandı;

Tablo 2.

cDNA Sentez Protokolü

Bileşenler	**Örnek Başına Hacim**
10x Buffer	2 µl
dNTP	0,8 µl
Random Primer	2 µl
Enzim	1 µl
Su	4,2 µl
RNA	10 µl
Toplam	20 µl

Hazırlanan bu karışım PCR tüplerine dağıtıldı ve aşağıda verilen uygun şartlar altında PCR cihazında çalışıldı (The Applied Biosystems® Veriti® 96-Well PCR). Örneklerden cDNA eldesi için PCR cihazında aşağıda verilen protokol uygulandı.

Tablo 3.

PCR Koşulları

Sıcaklık	**Zaman**
25 ºC	10 dk
37 ºC	120 dk
85 ºC	5 dk

3.2.3. Primer Dizileri

Belirlenen genler için primer dizileri hazırlandı ve analiz edildikten sonra çalışıldı. Çalışmada kullanılan gen bölgelerine ait tüm genler için sırasıyla analiz edildikleri primer dizileri ID'leri aşağıda verilmiştir.

Tablo 4.

Ekspresyon Seviyeleri Bakılan Genlere Ait Primer Dizileri

GEN	**PRİMER DİZİSİ- Thermo Fisher ID**
IL-4	Hs99999038_m1
IL-13	Hs9999909038_m1

3.2.4. Real-Time PCR (qRT-PCR) Uygulaması

Çoğaltılan cDNA örnekleri quantitative Real-Time PCR (LightCycler®480, Roche) çalışması için kullanıldı. Syber Green kullanılarak gen ekspresyon seviyeleri analiz edildi (Power SYBR Green PCR Master Mix, 5 ml, Applied Biosystems, İngiltere). cDNA örneklerinden belirlenen genlerin ekspresyonu için aşağıda verilen protokol uygulandı;

Tablo 5.

Real Time PCR Malzeme Miktarları

Bileşenler	**Örnek Başına Hacim**
SyberGreen Master Mix	5 µl
Forward Primer	0,75 µl
Reverse Primer	0,75 µl
RNAse Free Su	2,5 µl
cDNA	1 µl
Toplam	10 µl

qRT-PCR yönteminde gen ifade düzeylerine bakılan IL-4 ve IL-13 genlerinin normalizasyonu hamarat (housekeeping gene) gen olan GAPDH geni ile yapıldı. Bu çalışmada, kısmi miktarlara dayalı PCR yönteminde bulunan sonuçları doğrulamak için Real-Time PCR (qRT-PCR) yöntemi kullanıldı. qRT-PCR analizi cihazı kullanılarak gerçekleştirildi.

Tablo 6.

qRT-PCR Sentez Basamak Ayarları

Basamağın Adı	Döngü Sayısı	Zaman	Sıcaklık (ºC)
Hold	1	10 dk	95
Döngü	40	15 sn	95
		1 dk	60
E	1	Sürekli	60-95

3.3. İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler IBM Statistics SPSS 20.0 programı kullanılarak değerlendirildi. Verilerin istatistiksel analizleri ANOVA kullanılarak tespit edildi. Gruplar arasında gözlenen farkları karşılaştırmak için Mann Whitney U testi uygulandı ve farklar 0,05 önem düzeyinde incelendi ($p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi).

Genetik analizler kısmında qRT- PCR yönteminde elde edilen CP (Crossing points) değerleri düzenlendi.

qRT-PCR sonuçlarına istatistiksel analiz yapılırken $2^{-\Delta Cp}$ formülü kullanıldı.

ΔCp = Hedef gen – Referans Gen (Livak ve Schmittgen 2001)

Analiz Elde edilen veriler SPSS v20.0 for Windows (Armonk, New York, ABD: IBM Corp.) ile analiz edildi. Normal dağılımı belirlemek için tüm veriler Kolmogorov–Smirnov testi ve Shapiro–Wilk testi ile değerlendirildi. Gen ekspresyon seviyeleri $2^{-\Delta\Delta Ct}$

yöntemi [ΔΔCt=(Ct Target gen-Ct referans geni)] ile değerlendirildi. Ekspresyon değişimi için nonparametrik testler yapıldı, gruplar arası karşılaştırma Kruskal-Wallis, Mann-Whitney U-testi ve Bonferroni düzeltmesi ile yapıldı. < 0.05 olan bir p değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Ölçüm sonuçlarına ayrıca "T" testi uygulandı. p değeri; p < 0.05 olanlar anlamlı kabul edildi.

3.4. İstatistiksel Yöntem

Çalısmamızda verilerin istatistiksel analizi için SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago, IL, USA) programının 21.0 versiyonu kullanıldı. Başlangıç analizleri olarak normal dağılımın değerlendirilmesinde Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri kullanılmıştır. Tanımlayıcı verilerin değerlendirilmesinde normal dağılım, ortalama, ortanca, en düşük, en yüksek değer, standart sapma ve sıklık değerleri hesaplanmıştır. Sayısal değişkenlerden normal dağılım gösterenler ortalama ± standart sapma, normal dağılım göstermeyenler ise ortanca ve en düşük- en yüksek değerler olarak; kategorik değişkenler ise frekans ve yüzde olarak belirtilmiştir. Kategorik değişkenlerin değerlendirilmesinde Ki kare testi kullanılmıştır. Sürekli değişkenlerin değerlendirilmesinde Bağımsız Gruplarda T, Mann-Whitney U veya Kruskal-Wallis testleri uygulanmıştır. Kruskal-Wallis testinde istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptanan grupların tespit edilmesi için post hoc analizler uygulanmış ve Bonferroni düzeltmesi kullanılarak hesaplanmıştır. En az biri normal dağılım göstermeyen sürekli değişkenler arasındaki ilişkiler Spearmen testi ile değerlendirilmiştir.

Sonuçlar %95 güven aralığında değerlendirilerek p<0,05 istatistiksel anlamlılık olarak kabul edilmiştir.

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM
ARAŞTIRMA BULGULARI

Araştırmamıza dahil olan 82 katılımcıdan 45 (%54,9)'inin KOAH tanısı varken 37 (%45,1)'si kontrol grubudur. Katılımcıların 55 (%67,1)'inin cinsiyetinin erkek, 27 (%32,9)'sinin kadın olduğu hesaplanmıştır.

Katılımcıların yaş ortalamasının 67,2±10,2 olduğu, boy ortancasının 165 (En düşük=120- En yüksek=188) olduğu, kilo ortancasının 72 (En düşük=40- En yüksek=100) olduğu saptanmıştır.

Katılımcıların 27 (%32,9)'sinin daha önce sigara kullanıcısı olup bırakmış olduğu, 17 (%20,7)'sinin sigara kullanıcısı olduğu ve 38 (%46,3)'inin hiç sigara kullanmadığı tespit edilmiştir.

Araştırmamıza dahil olan katılımcıların 31 (37,8)'inin herhangi bir ek hastalık tanısı olmadığı, 18 (%22)'inin HT tanısı olduğu, 6 (%7,3)'sının HT ve DM tanısı olduğu, 8 (%9,8)'inin HT, DM tanıları başka hastalıkların da eşlik ettiği ve 19 (%23,2)'unun HT ve DM hastalıkları dışında ek hastalık tanıları olduğu saptanmıştır.

KOAH tanısı olan 45 hastanın dispne derecesi değerlendirildiğinde 0 olan 4 (%4,9) katılımcı, 1 olan 10 (%12,2) katılımcı, 2 olan 6 (%7,3) katılımcı, 3 olan 11 (%13,4) katılımcı ve 4 olan 14 (%17,1) katılımcı olduğu hesaplanmıştır.

KOAH tanısı olan 45 hastanın KOAH şiddeti incelendiğinde A olan 13 (%15,9) katılımcı, B olan 6 (%7,3) katılımcı, C olan 3 (%3,7) katılımcı ve D olan 23 (%28) katılımcı olduğu saptanmıştır (Tablo 7).

Tablo 7.

Katılımcıların yaş ve fiziksel özellikleri ile sigara kullanımı, komorbidite, ilaç kullanımı, KOAH şiddeti ve dispne derecelerinin tanımlayıcı özellikleri

	Ortalama± Standart Sapma	**Ortanca (En Düşük- En Yüksek)**
Yaş(yıl)	67,2±10,2	67 (42-89)
Boy(cm)	165,02±9,7	165 (120-188)
Ağırlık(kg)	72,7 ±13,5	72 (40-100)
	n	**%**
Sigara Kullanımı (n=82)		
Eski	27	32,9
Var	17	20,7
Yok	38	46,3
Komorbidite (n=82)		
Yok	31	37,8
HT	18	22
HT ve DM	6	7,3
HT, DM ve Diğer	8	9,8
Diğer	19	23,2
İlaç Kullanımı (SSRI vs) (n=82)		
Eski	1	1,2
Var	5	6,1
Yok	76	92,7
Dispne Derecesi (n=45)		
0	4	4,9
1	10	12,2
2	6	7,3
3	11	13,4

Tablo 7'nin devamı

4	14	17,1
mMRC (n=45)		
CAT<10	14	17,1
CAT≥10	31	37,8
KOAH Şiddeti (n=45)		
A	13	15,9
B	6	7,3
C	3	3,7
D	23	28

cm: Santimetre, kg: Kilogram, HT:hipertansiyon, DM: Diabetes Mellitus, mMRC: Modified Medical Research Council, CAT: Chronic obstructive pulmonary disease assessment test, KOAH: Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı.

Katılımcıların serotonin ortancasının 225,04 (En düşük=25,7-En yüksek=765,4), IL-4 ortancasının 2,93 (En düşük=0,03-En yüksek=12,05), 8-OHdG ortancasının 301,1 (En düşük=54,2-En yüksek=701,3), SOD ortancasının 35 (En düşük=11-En yüksek=155), GPx ortancasının 44,5 (En düşük=12-En yüksek=97) ve MDA ortancasının 15,5 (En düşük=2-En yüksek=42) olduğu tespit edilmiştir (Tablo 8).

Tablo 8.

Tüm katılımcıların araştırma dahilinde kullanılan biyobelirteçlerinin ortalama ve ortanca değerleri

	Ortalama± Standart Sapma	**Ortanca (En Düşük- En Yüksek)**
Serotonin(ng/mL)	226,7±161,1	225,04 (25,7-765,4)
IL-4(ng/mL)	2,64±2,43	2,93 (0,03-12,05)
8-OHdG(ng/mL)	309,2±181,5	301,1 (54,2-701,3)
SOD(ng/mL)	53,8±35,9	35 (11-155)

Tablo 8'in devamı

GPx(ng/mL)	47,4±21,9	44,5 (12-97)
MDA(ng/mL)	13,2±9,9	15,5 (2-42)

Katılımcıların demografik özellikleri ve incelenen parametrelerinin hasta ve kontrol gruplarına göre değerlendirilmesi Tablo 9'da gösterilmiştir.

Yaş değişkeninde hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir (p=0,025). Hasta grubunun yaş ortalamasının 69,4±9,8, kontrol grubunun yaş ortalamasının 64,4±10,1 olduğu hesaplanmıştır.

Sigara kullanımı değişkeninde hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir (p=0,031). Hasta grubunda eskiden sigara kullanıcı olan 19 (%42,2), sigara kullanıcı olan 11 (%24,4) ve hiç sigara kullanmamış olan 15 (%33,3) katılımcı varken; kontrol grubunda eskiden sigara kullanıcı olan 8 (%21,6), sigara kullanıcısı olan 6 (%16,2) ve hiç sigara kullanmamış olan 23 (%62,2) katılımcı olduğu tespit edilmiştir.

Serotonin değişkeninde hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir (p<0,001). Hasta grubunun serotonin ortancasının 319,8 (En düşük=79,6-En yüksek=765,4), kontrol grubunun serotonin ortancasının 80,3 (En düşük=25,7-En yüksek=115,4) olduğu hesaplanmıştır.

IL-4 değişkeninde hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir (p=0,005). Hasta grubunun IL-4 ortancasının 3,1 (En düşük=0,03-En yüksek=12,05), kontrol grubunun IL-4 ortancasının 1,1 (En düşük=0,04-En yüksek=6,3) olduğu saptanmıştır.

8-OHdG değişkeninde hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir (p<0,001). Hasta grubunun 8-OHdG ortancasının 403,9 (En düşük=276,2-En yüksek=701,3) kontrol grubunun 8-OHdG ortancasının 123,2 (En düşük=54,2-En yüksek=265,2) olduğu hesaplanmıştır.

SOD değişkeninde hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir (p<0,001). Hasta grubunun SOD ortancasının 28 (En düşük=11-En yüksek=42), kontrol grubunun SOD ortancasının 79 (En düşük=50-En yüksek=155) olduğu tespit edilmiştir.

GPx değişkeninde hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir (p<0,001). Hasta grubunun GPx ortancasının 29 (En düşük=12-En yüksek=67), kontrol grubunun GPx ortancasının 63 (En düşük=44-En yüksek=97) olduğu hesaplanmıştır.

MDA değişkeninde hasta ve kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir (p<0,001). Hasta grubunun MDA ortancasının 19 (En düşük=11-En yüksek=42), kontrol grubunun MDA ortancasının 3 (En düşük=2-En yüksek=9) olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 9.

Hasta ve kontrol gruplarının cinsiyet, fiziksel özellikler, sigara kullanım durumu, komobidite ve biyobelirteç seviyelerinin karşılaştırılması

		Hasta (n=45)	**Kontrol (n=37)**	**p**
Cinsiyet n(%)				
	Erkek	34 (75,6)	21 (56,8)	0,071*
	Kadın	11 (24,4)	16 (43,2)	
Yaş (ortalama±SD)		69,4±9,8	64,4±10,1	**0,025****
Boy (ortanca kg)		170 (120-182)	165 (144-188)	0,25***
Kilo (ortanca cm)		70 (40-100)	74 (50-100)	0,246***
Sigara Kullanımı n(%)				
	Eski	19 (42,2)	8 (21,6)	**0,031***
	Var	11 (24,4)	6 (16,2)	
	Yok	15 (33,3)	23 (62,2)	

Tablo 9'un devamı				
Komorbidite n(%)	Yok	18 (40)	13 (35,1)	
	HT ve/ veya Diğer	17 (37,8)	15 (40,5)	0,902*
	Diğer	10 (22,2)	9 (24,3)	
Serotonin (ortanca ng/dL)		319,8 (79,6-765,4)	80,3 (25,7-115,4)	**<0,001*****
IL-4 (ortanca ng/dL)		3,1 (0,03-12,05)	1,1 (0,04-6,3)	**0,005*****
8-OHdG (ortanca ng/dL)		403,9 (276,2-701,3)	123,2 (54,2-265,2)	**<0,001*****
SOD (ortanca ng/dL)		28 (11-42)	79 (50-155)	**<0,001*****
GPx (ortanca ng/dL)		29 (12-67)	63 (44-97)	**<0,001*****
MDA (ortanca ng/dL)		19 (11-42)	3 (2-9)	**<0,001*****

P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. *: Ki kare testi kullanılmıştır. **: Bağımsız Gruplarda T testi kullanılmıştır. ***: Mann Whitney U testi kullanılmıştır.

Katılımcıların sigara kullanma öyküsüne göre parametrelerin değerlendirilmesi Tablo 10'da gösterilmiştir. İncelenen değişkenlerden serotonin, 8-OHdG ve SOD parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu hesaplanmıştır (Sırasıyla p=0,008, p=0,002 ve p=0,005). İstatistiksel olarak anlamlı farkı oluşturan grup veya grupları tespit etmek için yapılan post hoc analizlerde serotonin parametresinde istatistiksel anlamlılığı oluşturan grup tespit edilememiştir. 8-OHdG ve SOD parametrelerinde istatistiksel anlamlı farkın sigarayı bırakmış olan grupla hiç sigara içmemiş olanlardan oluşan grup arasındaki farktan kaynaklandığı tespit edilmiştir.

Tablo 10.

Sigara içme öyküsüne göre hastaların biyobelirteçlerinin ortanca değerlerinin karşılaştırılması

	Sigara içme öyküsü [ortanca (en düşük-en yüksek)]			
	Eski	**Var**	**Yok**	**p***
Serotonin	296,6 (69,2-644,9)	310,2 (48,4-765,4)	103,8 (25,7-669,3)	**0,008**
IL-4	2,8 (0,03-8,06)	3,1 (0,1-6,3)	2,6 (0,04-12,05)	0,773
8-OHdG	390,1 (113,2-652,2)	341,4 (162,8-576,2)	143,5 (54,2-701,3)	**0,002**
SOD	29 (11-131)	31 (14-137)	66,5 (15-155)	**0,005**
GPx	39 (12-87)	38 (20-96)	55,5 (17-97)	0,33
MDA	17 (2-42)	16 (2-27)	6 (2,34)	0,19

$p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. *: Kruskal Wallis testi kullanılmıştır.

KOAH tanılı olan katılımcıların dispne derecesine göre parametrelerin değerlendirilmesi Tablo 11'de gösterilmiştir. İncelenen değişkenlerden 8-OHdG, GPx ve MDA değişkenlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir (Sırasıyla $p<0,001$, $p=0,038$ ve $p=0,011$). İstatistiksel olarak anlamlı farkı oluşturan grup veya grupları tespit etmek için yapılan post hoc analizlerde 8-OHdG parametresinde istatistiksel anlamlılık dispne derecesi 0 olan grupla 2,3 ve 4 arasındaki, dispne derecesi 1 olan grupla 3 ve 4 arasındaki, dispne derecesi 2 olan grupla 4 arasındaki, dispne derecesi 3 olan grupla 4 arasındaki anlamlı farktan kaynaklandığı hesaplanmıştır. GPx parametresinde istatistiksel anlamlılığı oluşturan grup tespit edilememiştir. MDA parametresinde ise dispne derecesi 0 olan grupla 4 olan grup arasındaki anlamlı farktan kaynaklandığı tespit edilmiştir.

Tablo 11.

Dispne derecesine göre hastaların biyobelirteçlerinin ortanca değerlerinin karşılaştırılması

	Dispne Derecesi [ortanca (en düşük-en yüksek)]					
	0 (4)	**1 (10)**	**2 (6)**	**3 (11)**	**4 (14)**	**p**
Sero-tonin	326,2 (275,02-406,8)	385,9 (259,9-765,4)	323,3 (265,8-667,7)	267,2 (198,3-370,8)	326,4 (79,6-589,5)	0,063
IL-4	0,7 (0,1-3,1)	3,1 (0,6-3,1)	3,1 (1,6-3,1)	3,1 (0,24-8,9)	3,1 (0,03-12,05)	0,318
8-OHdG	302,4 (289,5-317,2)	337,8 (276,2-412,3)	375,2 (347,2-418,7)	414,1 (364,4-524,5)	596,3 (498,4-701,3)	**<0,001**
SOD	22 (15-28)	28 (11-32)	29,5 (28-32)	23 (14-38)	30 (14-42)	0,139
GPx	38,5 (25-43)	29,5 (22-53)	35,5 (20-67)	22 (12-31)	29,5 (20-45)	**0,038**
MDA	16 (13-17)	18 (16-24)	18 (11-32)	20 (17-34)	22,5 (15-42)	**0,011**

p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. *: Kruskal Wallis testi kullanılmıştır.

Tablo 12.

KOAH şiddetine göre hastaların biyobelirteçlerinin ortanca değerlerinin karşılaştırılması

	KOAH Şiddeti [ortanca (en düşük-en yüksek)]				
	A	**B**	**C**	**D**	**p**
Sero-tonin	370 (259-765,4)	331,1 (218,6-667,7)	369,4 (267,2-669,3)	307,9 (79,6-589,5)	0,233
IL-4	3,1 (0,1-3,1)	3,1 (0,2-11,1)	3,1 (0,7-3,1)	3,1 (0,03-12,05)	0,278
8-OHdG	326,2 (276,2-467,8)	419,3 (347,2-674,4)	343,2 (300-403,9)	523,2 (363,2-701,3)	**<0,001**
SOD	22 (15-32)	29 (14-32)	23 (11-32)	29 (14-42)	0,42
GPx	31 (20-53)	26 (17-67)	31 (23-34)	28 (12-55)	0,84
MDA	17 (13-24)	16,5 (11-19)	18 (18-19)	23 (17-42)	**<0,001**

p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. *: Kruskal Wallis testi kullanılmıştır.

KOAH tanılı olan katılımcıların KOAH şiddetine göre parametrelerin değerlendirilmesi Tablo 12'de gösterilmiştir. İncelenen değişkenlerden 8-OHdG ve MDA

değişkenlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir (Sırasıyla p<0,001 ve p<0,001). İstatistiksel olarak anlamlı farkı oluşturan grup veya grupları tespit etmek için yapılan post hoc analizlerde 8-OHdG parametresinde istatistiksel anlamlılığın KOAH şiddeti A olan grupla D olan grup arasındaki farktan kaynaklandığı hesaplanmıştır. MDA parametresinde ise istatistiksel anlamlılığı oluşturan grubun KOAH şiddeti D olan grup olduğu saptanmıştır.

Tablo 13.

Katılımcılara ait sürekli değişkenler arasındaki Spearmen Korelasyon analizi

Spearmen Korelasyon	Yaş	Boy	Kilo	Serotonin	IL-4	8-OHdG	SOD	GPx	MDA
Yaş	X	-,110 ,326	,034 ,764	,166 ,135	,203 ,067	,419** **<0,001**	-,186 ,094	-,252* **,022**	,277* **,012**
Boy		X	,161 ,148	,230* **,038**	,068 ,544	,061 ,588	-,238* **,031**	-,077 ,489	,025 ,823
Kilo			X	-,140 ,211	,069 ,539	-,134 ,229	,082 ,463	,076 ,497	-,101 ,366
Serotonin				X	,320** **,003**	,712** **<0,001**	-,713** **<0,001**	-,677** **<0,001**	,663** **<0,001**
IL-4					X	,317** **,004**	-,190 ,087	-,290** **,008**	,363** **,001**
8-OHdG						X	-,687** **<0,001**	-,730** **<0,001**	,801** **<0,001**
SOD							X	,707** **<0,001**	-,726** **<0,001**
GPx								X	-,710** **<0,001**
MDA									X

P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Birinci satır=r değeri, İkinci satır=p değeri

Araştırmamıza dahil olan katılımcıların sürekli değişkenleri arasındaki ilişki Tablo 13'te gösterilmiştir. Yaş değişkeni ile 8-OHdG değişkeni arasında pozitif yönde düşük

düzeyde (r=0,419, p<0,001), GPx değişkeni arasında negatif yönde düşük düzeyde (r=0,252, p=0,022) ve MDA değişkeni arasında pozitif yönde düşük düzeyde (r=0,277, p=0,012) istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir.

Boy değişkeni ile serotonin değişkeni arasında pozitif yönde düşük düzeyde (r=0,23, p=0,038) ve SOD değişkeni arasında negatif yönde düşük düzeyde (r=0,238, p=0,031) istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olduğu hesaplanmıştır.

Serotonin değişkeni ile IL-4 değişkeni arasında pozitif yönde düşük düzeyde (r=0,32, p=0,003), 8-OHdG değişkeni arasında pozitif yönde yüksek düzeyde (r=0,712, p<0,001), SOD değişkeni arasında negatif yönde yüksek düzeyde (r=0,713, p<0,001), GPx değişkeni arasında negatif yönde orta-yüksek düzeyde (r=0,677, p<0,001), MDA değişkeni arasında değişkeni arasında pozitif yönde orta-yüksek düzeyde (r=0,663, p<0,001) istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olduğu saptanmıştır.

IL-4 değişkeni ile 8-OHdG değişkeni arasında pozitif yönde düşük düzeyde (r=0,317, p=0,004), GPx değişkeni arasında negatif yönde düşük düzeyde (r=0,29, p=0,008), MDA değişkeni arasında pozitif yönde düşük düzeyde (r=0,363, p=0,001) istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir.

8-OHdG değişkeni ile SOD değişkeni arasında negatif yönde orta-yüksek düzeyde (r=0,687, p<0,001), GPx değişkeni arasında negatif yönde yüksek düzeyde (r=0,73, p<0,001), MDA değişkeni arasında pozitif yönde yüksek düzeyde (r=0,801, p<0,001) istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olduğu saptanmıştır.

SOD değişkeni ile GPx değişkeni arasında pozitif yönde yüksek düzeyde (r=0,707, p<0,001) ve MDA değişkeni arasında negatif yönde yüksek düzeyde (r=726, p<0,001) istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir.

GPx değişkeni ile MDA değişkeni arasında negatif yönde yüksek düzeyde (r=710, p<0,001) istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir.

BEŞİNCİ BÖLÜM
SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada KOAH hastaları ile kontrol grubu arasındaki tanı ve tedavide kullanılabilecek erken biyobelirteç potansiyeli olan IL-4, Serotonin, MDA, GPx, 8-OHdG ve SOD parametreleri araştırılmıştır. Bu çalışmanın ana bulgusu olarak; KOAH hastalarında Serotonin, IL-4, 8-OHdG, MDA değerleri kontrol grubuna göre yüksek çıkarken SOD ve GPx düşük seviyede olduğu saptanmıştır. Bu parametrelerin birbirleri ile olan ilgisi incelendiğinde; Serotonin değişkeni ile IL-4, 8-OHdG ve MDA değişkenleri arasında pozitif yönde; SOD ve GPx değişkenleri arasında negatif yönde korelasyon olduğu gösterilmiştir. IL-4 değişkeni ile 8-OHdG ve MDA değişkenleri arasında pozitif yönde, GPx değişkeni arasında negatif yönde bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir. 8-OHdG değişkeni ile SOD ve GPx değişkenleri arasında negatif yönde, MDA değişkeni ile pozitif yönde bir korelasyon olduğu saptanmıştır. SOD değişkeni ile GPx değişkeni arasında pozitif yönde ve MDA değişkeni arasında negatif yönde bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir. GPx değişkeni ile MDA değişkeni arasında negatif yönde bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir.

Literatüre bakıldığında Karolinska COSMIC kohortu araştırmasında; triptofan yolu metabolitleri ile sigara içme ve KOAH arasında bir ilişki olduğunu bildirmiş. Tanımlanan dokuz triptofan yolu metabolitinden, sağlıklı sigara içenlerde ve/veya KOAH sigara içenlerde hiç sigara içmeyen popülasyona kıyasla kinurenin fazlalığının azaldığı ve serotoninin arttığı gösterilmiş (Naz, vd., 2017). Bu ilişkilerin daha ayrıntılı incelendiği devam niteliğindeki çalışmalarda da, önceki metabolomik çalışmasından elde edilen bulguları doğrulayarak, triptofan yolunun sigara içme ve KOAH'taki potansiyel rolüne bulgularla daha çok kanıt eklenmiş (Wheelock, vd., 2019). Ayrıca triptofan seviyeleri, ortak cinsiyet karşılaştırmalarında herhangi bir anlamlı değişiklik göstermese de, kadınlara göre erkek sigara içenlerde ve KOAH'lı olup içenlerde hiç sigara içmeyenlere göre triptofan düzeylerinin azaldığını ortaya konulmuş. Bununla birlikte, hiç sigara içmeyen popülasyonda triptofan metabolizmasında büyük bir cinsiyet farklılığı gözlemlenmemiş,

sadece kinurenik asit erkeklerde küçük bir artış göstermiştir. Daha önce yapılan birkaç çalışma, pnömoni hastalarında IDO aktivitesinde bir artış olduğu öne sürülerek kan triptofan düzeylerinin düştüğünü ve kinüreninin arttığını bildirmiştir (Meier, vd., 2017; Y. Suzuki, vd., 2011). Meier ve arkadaşlarının ile Gulcev ve arkadaşlarının çalışmalarında; hastaneye yatış sırasında KOAH'ın akut alevlenmelerinde de yüksek IDO aktivitesi rapor edildiği ve ardından bir aylık takipte daha düşük seviyelere döndüğü gösterilmiştir (Gulcev, vd., 2016). Naz ve arkadaşlarının çalışmalarında; sigara içenlerde hiç sigara içmeyenlere göre serum IDO aktivitesi azalmış, ancak KOAH tanısı ile artmış olduğu gösterilmiştir (Naz, vd., 2017). Farklı bir durum olarak Pertovaara vd., KOAH olmayan sigara içenlerde ve sigara içen KOAH hastalarında balgam IDO aktivitesinde progresif bir azalma bildirmişlerdir (Pertovaara, vd., 2006).

Anksiyete ve depresif semptomlar, KOAH'lı hastalarda, zorlu ekspiratuar hacim (FEV1) ve kadınlarda solunum semptomları açısından hafif olsa bile yaygındır (Marco, vd., 2006). Ayrıca bazı çalışmalarda stres belirteci olan serotonin ile sigara içen kadın KOAH'lıların duygusal işlevleri arasında pozitif bir ilişki gözlemlenmiş (Naz, vd., 2017). Bizim araştırmamızda da hasta grubunun serotonin ortalamasının kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştı. Araştırmamız bulguları genel olarak literatürle paralellik gösterse de cinsiyet ve duygu durumlarına göre serotonin ve KOAH arasındaki ilişki literatürde farklı bulgularla tartışılmaya devam etmektedir.

Literatürde KOAH'ta IL-4 ekspresyonu için kanıtlar çelişkilidir. Zhu ve arkadaşlarının çalışmasında; IL-4 mRNA'yı eksprese eden submukozal bez hücrelerinin sayısı, kronik bronşit hastalarında asemptomatik sigara içenlere göre daha fazla olduğu gösterilmiş (Zhu, vd., 2002). Bazı derlemelerde konuya farklı açılardan yaklaşılsa da araştırmalarda; KOAH'lı sigara içenlerden elde edilen akciğer rezeksiyonu lenfositleri, CCR3/CCR4 gibi IL-4 veya Th2 kemokin reseptörleri ekspresyonunu göstermediği saptanmış, ancak CXCR3 gibi yüksek seviyelerde IFN-y ve Thl kemokin reseptörleri gösterilmiştir. Buna karşılık BAL lenfositlerinin, KOAH hastalarından alınan periferik IL-4+ CD4, IL-4+ CD8 ve IL-13+ CD8 T hücrelerinin KOAH olmayıp sigara içenler veya

kontrol grubu olanlardan daha büyük olduğu, ancak BAL oranıyla karışık bir fenotipe sahip olduğu bildirilmiş (May ve Fung, 2015).

Shibata ve arakdaşlarının genetiği değiştirilmiş bir dizi fare kullanarak yaptığı deneylerde, bir Th2 sitokini olan bazofilden türetilen IL-4'ün, akciğere sızan monositlere etki ederek onların MMP-12 üreten intersitisyel makrofajlara farklılaşmasını teşvik ettiğini ve bunun da alveolar duvarların tahrip olmasına ve amfizeme yol açtığı saptanmış. Yalnızca bazofillerde IL-4 eksikliği olan fareler, patojenik MMP-12 üreten intersitisyel makrofajlar üretemediği ve dolayısıyla amfizem geliştirmediği saptanmış. Bu nedenle bazofilden türetilen IL-4/monositten türetilen IM/MMP-12 ekseni, amfizem oluşumunda önemli bir rol oynadığı ve bu nedenle KOAH'ın başlangıç aşamasında amfizem ilerlemesini yavaşlatmak için potansiyel bir hedef olabileceği belirtilmiş (Shibata, vd., 2018).

Lui ve arkadaşlarının araştırmalarında Pleiotropik bir sitokin olarak IL-4, tip 2 T-yardımcı yanıtlarında ve B hücrelerinin izotip sınıfının IgE sentezine geçişinde çok önemli bir rol oynadığı ve bu nedenle IL-4'ün astım ve KOAH patogenezinde önemli bir rolü olabileceği öne sürülmüş (Y. Liu, vd., 2014). Huang ve arkadaşlarının Astım KOAH Overlap Sendromu ve akut KOAH alevlenmesi olan hastalarda sitokinlerin korelasyonlarını değerlendirdiği çalışmasında, IL-4 seviyelerinin Astım KOAH Overlap sendromu ve KOAH alevlenmesi olan hastalarda Astım hastası gruplarına göre anlamlı olarak düşük olduğu ve IL-8 düzeylerinin de yüksek olduğu gösterilmiş. Sistemik inflamasyonunun yaygın olduğu KOAH alevlenme ve Astım Overlap KOAH hastalarının astımdan ayrımında; IL-4 ve IL-8 expresyonlarındaki farklılığın değerlendirmesinin başarılı olabileceği ileri sürülmüş(182). Bu araştırma da literatürle paralel olarak KOAH grubundaki IL-4 düzeylerinin kontrol gruplarına göre yüksek olduğu tespit edilmişti. KOAH immunopatolojisinin mekanizmasının araştırmalarının yanında klinik verilerin de artmasıyla IL-4'ün gelecek dönemlerde tanı ve tedavide önemli rol oynayacağı düşünülebilir.

Mevcut veriler, oksidatif stresin KOAH patogenezinde önemli bir predispozan faktör olduğunu göstermektedir. Sigara içmek, eksojen oksidanların ana kaynağını temsil eder ve sigara dumanının her bir nefesi, hidrojen peroksit (H2O2), hidroksil ve organik radikaller gibi güçlü oksidanlar dahil olmak üzere yaklaşık 5000 toksik bileşik içerir (Goldkorn ve Filosto, 2010). Bu serbest radikaller, makrofajlar gibi inflamatuar hücreleri akciğere çeker (Bertram ve Hass, 2008), daha sonra süperoksit radikali ve hidrojen peroksit formunda endojen reaktif oksijen türleri (ROS) üretilir. Bu oksidanlar, oksidatif deoksiribonükleik asit (DNA) hasarının ana tezahürü olduğu akciğer epitel hücrelerini bozar (Kehrer, 1993). Maluf ve arakdaşlarının çalışmasında KOAH hastalarının hem akciğerlerinde hem de dolaşımdaki hücrelerinde DNA hasarı olduğu gösterilmiş (Maluf, vd., 2007). Bununla birlikte, KOAH hastalarının akciğerlerindeki oksidatif DNA hasarını non-invaziv yaklaşımlarla değerlendirmek için biyobelirteçler henüz tam olarak oluşturulmamıştır. Ancak biobelirteçler üzerine yapılan bazı çalışmalarda sigara içimi, 8-okso-7,8-dihidro-2'deoksiguanozin (8-OHdG) oluşumu ile ilişkili olduğu gösterilmiş (Asami, vd., 1997).

Yang ve arkadaşlarının çalışmasında 8-OHdG düzeyi, sigara içen KOAH hastalarının PBMC'sinde (peripheral blood mononuclear cell), sigara içen ve içmeyen sağlıklı kişilere göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptanmış (S. Yang, vd., 2014). Ancak KOAH hastalarının akciğer dokularını elde etmek kolay değildir ve KOAH hastalarında büyük ölçekte akciğer dokusu analizinin kullanılması zordur. Bu bağlamda periferal hücrelerden elde edilebilecek DNA hasarına ait kanıtlar gelecekteki biyobelirteç olma potansiyellerini ortaya koymaktadır.

Yine Yang ve arkadaşlarının çalışmasında 8-OHdG'nin sigara içen KOAH'lılarda ve sağlıklı sigara içenlerde paket-yıl sigara içme ile anlamlı bir pozitif korelasyon gösterdiği saptanmış (S. Yang, vd., 2014). Bu gözlemler, sigara dumanının artan 8-OHdG seviyeleri ile ilişkili bir risk faktörü olduğunu düşündürmektedir. Diğer bir çalışma olarak Chen ve arkadaşlarının çalışmalarında da sigara içenlerin akciğer dokusu örneklerinde içmeyenlere göre daha yüksek 8-OHdG seviyeleri tespit edilmiş (Chen, vd., 2007). Burada bahsedilen

olası mekanizma, 8-OHdG'nin DNA replikasyonunda guanin:sitozinden adenin:timin transversiyonuna yol açması ve DNA hasarına yol açması şeklinde olduğu literatürde anlatılmaktadır. Bununla birlikte literatürdeki diğer çalışma ve görüşlerde de DNA oksidatif hasarının mikro uydu kararsızlığını arttırdığı ve metilasyonun inhibisyonu ile ortaya çıkan DNA hasarlarının, anormal bir apoptozu veya nekrozu indükleyebileceği ve dolayısıyla KOAH'ı karakterize eden doku anormalliklerine dönüşümde fibrolast, epitel hücreleri ve mezenkimal hücreler gibi ilgili hücrelerin aktivasyonları ile sonuçlandığı belirtilmektedir (Evans ve Cooke, 2004).

Igishi ve arkadaşları KOAH'lı hastalarda idrardaki 8-OHdG konsantrasyonuna göre oksidatif stres düzeyi değerlendirildiği çalışmasında KOAH grubunda 8-OHdG'nin üriner atılımının kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmış, ancak sigara içenlerde bu yükseklik anlamlı olarak saptanamamış (Igishi, vd., 2003). Daha çok hasta grubuyla araştırma yapılmasına ihtiyaç var gibi görünse de KOAH'da oksidatif stresin arttığını gösteren bu indirekt bulgu literatürle paralellik göstermektedir. Ayrıca bu araştırmada alt grup analizinin istatistiksel gücü göz önüne alındığında, KOAH grubundaki sigarayı bırakmış kişiler ile kontrol grubundakiler arasında idrar 8-OHdG'de anlamlı bir fark gözlemlenmiş. Bu sonuç, KOAH'lı hastalarda gözlenen artmış oksidan yükünün eksojenden ziyade endojen olabileceğini düşündürmektedir. Bu spekülasyon, kalıcı hava yolu ve akciğer parankimal inflamasyonunun KOAH ile ilişkili olduğu şeklindeki yeni kavram tarafından desteklenmektedir (Repine JE ve Bast A, 1997). Bu araştırma da literatürle ve temel immunopatolojik bakış açısıyla paralel olarak hasta grubunun 8-OHdG düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu gösterilmiş ve KOAH şiddetiyle korelasyonunda anlamlı farklılık saptanmıştı.

Montana ve arkadaşlarının çalışmasında sağlıklı kontrollere kıyasla odun dumanına maruziyetle oluşan KOAH'a sahip olgularda MDA ve SOD düzeylerinin anlamlı olarak artmış olduğu ve bu belirteçlerin FEV1 ile ters korelasyon gösterdiği saptanmış (Montaño, vd., 2010). Aynı şekilde yirmi yıldan uzun süredir literatürde bu parametrelerin benzer şekilde tütün içimiyle ilişkili KOAH'ta da yüksek olduğu bilinmektedir (Boots, vd., 2003).

Bazı epidemiyolojik çalışmalarda, ev içi odun dumanına ve diğer biyokütle katı yakıtlara maruz kalmanın, gelişmekte olan ülkelerde KOAH için ek önemli risk faktörleri olduğunu ortaya konulmuştu (Pérez-Padilla, vd., 1996). Odun dumanı ile ilişkili KOAH'ın başlaması ve ilerlemesinde yer alan hücresel ve moleküler mekanizmalar yeterince araştırılmasa da sonuç olarak; odun dumanı ve tütün içimi ile ilişkili KOAH'lı hastaların plazmasında oksidatif stresin bir belirteci olan MDA'yı ve antioksidan enzimler SOD, GPx, GR ve GST'nin aktivitesini analizinde anlamlı sonuçlar elde edilmiş (Montaño, vd., 2010). Etken biokütle ve/veya sigara dumanına maaruziyet de olsa literatürdeki diğer çalışmalarda oksidatif stresin potansiyel diğer etkilerinin MDA seviyeleri ve SOD enzim aktivitelerindeki artışla korele oldukları saptanmış (MacNee, 2005).

İlginç olarak Ağaçdiken ve arkadaşlarının çalışmalarında GSH düzeyleri KOAH'ın stabil fazına göre alevlenmeler sırasında ek artış bulunmamaktaydı, bu durum oksidan/ antioksidan aktivitenin sadece alevlenmeler sırasında değil, hastalığın stabil fazı boyunca da devam ettiğini düşündürmektedir (Agacdiken, vd., 2004). Ancak odun dumanına maruziyet gibi bir oksidatif stres sonucunda 4 saatte ve 20 saat sonrasında MDA seviyelerinin yükselmiş olması farklı bir durumu ortaya koymaktadır (Montaño, vd., 2010). Danielsen ve arkadaşlarının çalışmalarında odun dumanına maruz kaldıktan sonra, periferik kan mononükleer hücrelerinde DNA iplikçik kırılmalarının önemli ölçüde azaldığı ve oksoguanin glikosilaz-1'in mRNA seviyelerinin önemli ölçüde arttığı gösterilmiş, bu da odun dumanının kısa vadeli sistemik etkilere neden olduğunu düşündürmektedir. Bu nedenle, özellikle kadınların yemek pişirme sırasında oluşan oksidatif stres kronik şekilde devam ederse, inflamatuar yanıtın progrese olacağını düşündürebilir (Danielsen, vd., 2008). Bu araştırmalar KOAH'un uzun vadede ortaya çıkışını açıklıyor olabilir. Yine literatürdeki bazı odun dumanı ya da sigara dumanın uzun süre maruziyeti ile ilgili çalışmalarda sigaranın bırakılması ya da etkenden artık uzak kalınması durumunda bile KOAH'ın ilerlediği görülmüştür (Tashkin, vd., 2008). Ayrıca MDA ve SOD seviyelerindeki konsantrasyonlar ne kadar yüksek olursa KOAH ciddiyetinin de o kadar fazla olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (Joppa, vd., 2007). Bu çalışmada da literatürden farklı olarak SOD seviyesi hasta grubunda kontrol

grubuna göre düşük iken MDA seviyesinin literatürle paralel olarak hasta grubunda daha yüksek olduğu gösterilmişti. Ayrıca KOAH şiddetiyle MDA seviyesindeki farklılık da istatistiksel açıdan anlamlıydı. Bu çalışmada MDA parametresi literatürle paralellik göstermektedir. Ancak hasta ve kontrol grubunun KOAH olup olmadıkları ayrıca sigara içip içmedikleri standardize edilmiş olsa da pasif sigara maruziyeti ve çevre kirliliğine sekonder biokütle maruziyetlerinin etkisinden arındırma yapılamadığından literatürle paralellik göstermeyen SOD seviyeleri saptanmış olabilir.

Literatüre bakıldığında bir çok araştırmada KOAH hastalarında kontrol gruplarına göre GPx konsantrasyonlarının düşük olduğu gözlemlenmiş. Bununla birlikte çalışmalar arasında heterojenlik gözlemlenmektedir. Bu heterojenlik, numune işleme ve analitik prosedürdeki farklılıklar veya diğer kişiler arası farklılıklar gibi diğer bildirilmemiş faktörlere de bağlı olabilir. Ancak yine de araştırmalar göstermektedir ki daha şiddetli KOAH'ı olan hastalarda eritrosit GPx konsantrasyonlarının önemli ölçüde daha düşük olduğu görülmüş (Zinellu, vd., 2021).

Literatürdeki araştırmalarda belirli biyolojik matrisler GPx izoformlarının önemini vurgulamaktadır. Kanda, esas olarak iki izoform temsil edilir; sitozolde her yerde eksprese edilen hücre içi izoform GPx-1 ve birincil olarak glikosile edilmiş bir protein olarak mevcut olduğu plazmaya aktif olarak salınan hücre dışı GPx-3 (Brigelius-Flohé ve Flohé, 2020; Brigelius-Flohé ve Maiorino, 2013). Her iki izoform da aktif bölgelerinde hidrojen peroksit veya organik hidroperoksitlerin suya veya karşılık gelen alkollere indirgenmesini katalize eden bir selenosistein içeren homo-tetramerlerdir (Toppo, vd., 2009). Eritrositik bir enzim olarak tanımlanan ve karakterize edilen ilk selenoprotein olan GPx-1, hemoglobini oksidatif hasardan korur (Lubos, vd., 2011). GPx KOAH hastalarında KOAH'ı olmayan deneklerle karşılaştırıldığında ve hastalığı daha şiddetli olan KOAH hastalarında daha hafif formları olanlarla karşılaştırıldığında önemli ölçüde daha düşük olduğu gösterilmiştir (Zinellu, vd., 2021). GPx'in eritrositik izoformundaki önemli azalma, kısmen bu hücre tipinin oksidatif strese ve bozulmuş bir antioksidan sisteme önemli ölçüde maruz kalmasıyla açıklanabilir. GPx-1 ekspresyonunun hem in vitro hem de in vivo

çalışmalarda selenyum eksikliği ile azaldığı gösterilmiştir (Sarıkaya ve Doğan, 2020). KOAH'tan etkilenen hastaların sıklıkla selenyum eksikliği de dahil olmak üzere beslenme eksiklikleri gösterdiği de bilinmektedir (Santos, vd., 2004). Bu durum hastalıkta gözlemlenen azalmış GPx-1 aktivitesine katkıda bulunabilir. Ayrıca, ko-substrat olarak GSH kullanan bu enzimin azalmış aktivitesi, KOAH'ta bildirilen azalmış GSH konsantrasyonlarının bir sonucu olabilir (Sotgia, vd., 2020). Ek olarak, KOAH hastalarında hava yolu epitel hücrelerinde hızlandırılmış mRNA degradasyonuna bağlı olarak GPx-1 ekspresyonunda bir azalma da tarif edilmiştir (Dabo, vd., 2020). Bu çalışmada da literatürle paralel olarak hasta grubunun GPx ortancası kontrol grubuna göre düşük saptanmıştı. Bu nedenle, antioksidan savunma sisteminin bu önemli bileşeninin daha kapsamlı bir değerlendirmesi, bunun KOAH gelişimi ve ilerlemesindeki rolü ve terapötik yanıtın bir belirteci olarak yararlı bilgiler sağlayabilir.

KAYNAKÇA

Agacdiken, A., Basyigit, I., Özden, M., Yildiz, F., Ural, D., Maral, H., Boyaci, H., Ilgazli, A., & Komsuoglu, B. (2004). The effects of antioxidants on exercise-induced lipid peroxidation in patients with COPD. *Respirology*, *9*(1), 38–42.

Agustí, A., & Celli, B. (2017). Natural history of COPD: Gaps and opportunities. *ERJ Open Research*, *3*(4).

Agustí, A., & Hogg, J. C. (2019). Update on the Pathogenesis of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *New England Journal of Medicine*, *381*(13), 1248–1256.

Agustí, A., Melén, E., DeMeo, D. L., Breyer-Kohansal, R., & Faner, R. (2022). Pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease: understanding the contributions of gene–environment interactions across the lifespan. *The Lancet Respiratory Medicine*, *10*(5), 512–524.

Albano, G. D., Gagliardo, R. P., Montalbano, A. M., & Profita, M. (2022). Overview of the Mechanisms of Oxidative Stress: Impact in Inflammation of the Airway Diseases. *Antioxidants*, *11*(11).

Allinson, J. P., Hardy, R., Donaldson, G. C., Shaheen, S. O., Kuh, D., & Wedzicha, J. A. (2016). The presence of chronic mucus hypersecretion across adult life in relation to chronic obstructive pulmonary disease development. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *193*(6), 662–672.

Andrade, I. G. A., Suano-Souza, F. I., Fonseca, F. L. A., Lago, C. S. A., & Sarni, R. O. S. (2021). Selenium levels and glutathione peroxidase activity in patients with ataxia-telangiectasia: association with oxidative stress and lipid status biomarkers. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, *16*(1).

Asami, S., Manabe, H., Miyake, J., Tsurudome, Y., Hirano, T., Yamaguchi, R., Itoh, H., & Kasai, H. (1997). Cigarette smoking induces an increase in oxidative DNA damage, 8-hydroxydeoxyguanosine, in a central site of the human lung. *Carcinogenesis*, *18*(9), 1763–1766.

Audousset, C., McGovern, T., & Martin, J. G. (2021). Role of Nrf2 in Disease: Novel Molecular Mechanisms and Therapeutic Approaches – Pulmonary Disease/Asthma. *Frontiers in Physiology*, *12*.

Balzano, G., Stefanelli, F., Iorio, C., De Felice, A., Melillo, E. M., Martucci, M., & Melillo, G. (1999). Eosinophilic inflammation in stable chronic obstructive pulmonary disease: Relationship with neutrophils and airway function. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *160*(5 I), 1486–1492.

Baraldi, E., Bonadies, L., & Manzoni, P. (2020). Evidence on the Link between Respiratory Syncytial Virus Infection in Early Life and Chronic Obstructive Lung Diseases. *American Journal of Perinatology*, *37*(11), S26–S30.

Baraldo, S., Turato, G., Badin, C., Bazzan, E., Beghé, B., Zuin, R., Calabrese, F., Casoni, G., Maestrelli, P., Papi, A., Fabbri, L. M., & Saetta, M. (2004). Neutrophilic infiltration within the airway smooth muscle in patients with COPD. *Thorax*, *59*(4), 308–312.

Barceló, B., Pons, J., Ferrer, J. M., Sauleda, J., Fuster, A., & Agustí, A. G. N. (2008). Phenotypic characterisation of T-lymphocytes in COPD: Abnormal CD4+CD25+ regulatory T-lymphocyte response to tobacco smoking. *European Respiratory Journal*, *31*(3), 555–562.

Barnes, P. J. (2003). New Concepts in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Annual Review of Medicine*, *54*, 113–129.

Barnes, P. J. (2004). Small Airways in COPD. *New England Journal of Medicine*, *350*(26), 2635–2637.

Barnes, P. J. (2014). Cellular and molecular mechanisms of chronic obstructive pulmonary disease. *Clinics in Chest Medicine*, *35*(1), 71–86.

Başyiğit, İ. (2010). Koah Tanimi ve Klinik Özellikleri. *TTD Toraks Cerrahisi Bülteni*, *2*(1), 102–104.

Battelli, M. G., Polito, L., Bortolotti, M., & Bolognesi, A. (2016). Xanthine

oxidoreductase-derived reactive species: Physiological and pathological effects. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2016*.

Bayarri, M. A., Milara, J., Estornut, C., & Cortijo, J. (2021). Nitric Oxide System and Bronchial Epithelium: More Than a Barrier. *Frontiers in Physiology*, *12*.

Beasley, R., Weatherall, M., Travers, J., & Shirtcliffe, P. (2009). Time to define the disorders of the syndrome of COPD. *The Lancet*, *374*(9691), 670–672.

Becker, S., Mundandhara, S., Devlin, R. B., & Madden, M. (2005). Regulation of cytokine production in human alveolar macrophages and airway epithelial cells in response to ambient air pollution particles: Further mechanistic studies. *Toxicology and Applied Pharmacology*, *207*(2 SUPPL.), 269–275.

Bernard, K., Hecker, L., Luckhardt, T. R., Cheng, G., & Thannickal, V. J. (2014). NADPH oxidases in lung health and disease. *Antioxidants and Redox Signaling*, *20*(17), 2838–2853.

Bertram, C., & Hass, R. (2008). Cellular responses to reactive oxygen species-induced DNA damage and aging. *Biological Chemistry*, *389*(3), 211–220.

Bolton, C. E., Bush, A., Hurst, J. R., Kotecha, S., McGarvey, L., Stocks, J., & Walshaw, M. J. (2012). Are early life factors considered when managing respiratory disease? A British Thoracic Society survey of current practice. *Thorax*, *67*(12), 1110.

Boots, A. W., Haenen, G. R. M. M., & Bast, A. (2003). Oxidant metabolism in chronic obstructive pulmonary disease. *European Respiratory Journal, Supplement*, *22*(46).

Breyer-Kohansal, R., Faner, R., Breyer, M. K., Ofenheimer, A., Schrott, A., Studnicka, M., Wouters, E. F. M., Burghuber, O. C., Hartl, S., & Agusti, A. (2020). Factors associated with low lung function in different age bins in the general population. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *202*(2), 292–296.

Brigelius-Flohé, R., & Flohé, L. (2020). Regulatory Phenomena in the Glutathione Peroxidase Superfamily. *Antioxidants and Redox Signaling*, *33*(7), 498–516.

Brigelius-Flohé, R., & Maiorino, M. (2013). Glutathione peroxidases. *Biochimica et*

Biophysica Acta (BBA) - General Subjects, *1830*(5), 3289–3303.

Brunekreef, B., & Hoffmann, B. (2016). Air pollution and heart disease. *The Lancet*, *388*(10045), 640–642.

Busse, W. W. (2017). Biologicals for asthma in patients with asthma-COPD overlap. *The Lancet. Respiratory Medicine*, *5*(3), 175–177.

Calverley, P. M. A., Anderson, J. A., Celli, B., Ferguson, G. T., Jenkins, C., Jones, P. W., Yates, J. C., & Vestbo, J. (2007). Salmeterol and Fluticasone Propionate and Survival in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *New England Journal of Medicine*, *356*(8), 775–789.

Caramori, G., Casolari, P., Di Gregorio, C., Saetta, M., Baraldo, S., Boschetto, P., Ito, K., Fabbri, L. M., Barnes, P. J., Adcock, I. M., Cavallesco, G., Chung, K. F., & Papi, A. (2009). MUC5AC expression is increased in bronchial submucosal glands of stable COPD patients. *Histopathology*, *55*(3), 321–331.

Caramori, G., Di Gregorio, C., Carlstedt, I., Casolari, P., Guzzinati, I., Adcock, I. M., Barnes, P. J., Ciaccia, A., Cavallesco, G., Chung, K. F., & Papi, A. (2004). Mucin expression in peripheral airways of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Histopathology*, *45*(5), 477–484.

Caramori, G., Stefano, A., Casolari, P., Kirkham, P. A., Padovani, A., Chung, K. F., Papi, A., & Adcock, I. M. (2013). Chemokines and Chemokine Receptors Blockers as New Drugs for the Treatment of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Current Medicinal Chemistry*, *20*(35), 4317–4349.

Celli, B., Fabbri, L., Criner, G., Martinez, F. J., Mannino, D., Vogelmeier, C., Montes de Oca, M., Papi, A., Sin, D. D., Han, M. L. K., & Agusti, A. (2022). Definition and Nomenclature of Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Time for Its Revision. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *206*(11), 1317–1325.

Celli, B. R., & Agustí, A. (2018). COPD: Time to improve its taxonomy? *ERJ Open Research*, *4*(1).

Chapman, K. R., Chorostowska-Wynimko, J., Koczulla, A. R., Ferrarotti, I., & McElvaney, N. G. (2018). Alpha 1 antitrypsin to treat lung disease in alpha 1 antitrypsin deficiency: Recent developments and clinical implications. *International Journal of COPD*, *13*, 419–432.

Chavda, V., Chaurasia, B., Garg, K., Deora, H., Umana, G. E., Palmisciano, P., Scalia, G., & Lu, B. (2022). Molecular mechanisms of oxidative stress in stroke and cancer. *Brain Disorders*, *5*, 100029.

Chen, H. I., Liou, S. H., Ho, S. F., Wu, K. Y., Sun, C. W., Chen, M. F., Cheng, L. C., Shih, T. S., & Loh, C. H. (2007). Oxidative DNA damage estimated by plasma 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG): Influence of 4, 4′-methylenebis (2-chloroaniline) exposure and smoking. *Journal of Occupational Health*, *49*(5), 389–398.

Cho, H. Y., Reddy, S. P., & Kleeberger, S. R. (2006). Nrf2 defends the lung from oxidative stress. *Antioxidants and Redox Signaling*, *8*(1–2), 76–87.

Christenson, S. A., Steiling, K., Van Den Berge, M., Hijazi, K., Hiemstra, P. S., Postma, D. S., Lenburg, M. E., Spira, A., & Woodruff, P. G. (2015). Asthma-COPD overlap: Clinical relevance of genomic signatures of type 2 inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *191*(7), 758–766.

Cosio, M. G. (2004). Autoimmunity, T-cells and STAT-4 in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *European Respiratory Journal*, *24*(1), 3–5.

Cosio, M. G., Saetta, M., & Agusti, A. (2009). Immunologic Aspects of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *New England Journal of Medicine*, *360*(23), 2445–2454.

Costabel, U., & Guzman, J. (1992). Effect of smoking on bronchoalveolar lavage constituents. *European Respiratory Journal*, *5*(7), 776–779.

Dabo, A. J., Ezegbunam, W., Wyman, A. E., Moon, J., Railwah, C., Lora, A., Majka, S. M., Geraghty, P., & Foronjy, R. F. (2020). Targeting c-Src reverses accelerated GPX-1 mRNA decay in chronic obstructive pulmonary disease airway epithelial cells.

American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology, *62*(5), 598–607.

Danielsen, P. H., Bräuner, E. V., Barregard, L., Sällsten, G., Wallin, M., Olinski, R., Rozalski, R., Møller, P., & Loft, S. (2008). Oxidatively damaged DNA and its repair after experimental exposure to wood smoke in healthy humans. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, *642*(1–2), 37–42.

Davies, M. J., & Hawkins, C. L. (2020). The Role of Myeloperoxidase in Biomolecule Modification, Chronic Inflammation, and Disease. *Antioxidants and Redox Signaling*, *32*(13), 957–981.

De Flora, S., Balansky, R., & La Maestra, S. (2020). Rationale for the use of N-acetylcysteine in both prevention and adjuvant therapy of COVID-19. *FASEB Journal*, *34*(10), 13185–13193.

de Marco, R., Accordini, S., Cerveri, I., Corsico, A., Antó, J. M., Künzli, N., Janson, C., Sunyer, J., Jarvis, D., Chinn, S., Vermeire, P., Svanes, C., Ackermann-Liebrich, U., Gislason, T., Heinrich, J., Leynaert, B., Neukirch, F., Schouten, J. P., Wjst, M., & Burney, P. (2007). Incidence of chronic obstructive pulmonary disease in a cohort of young adults according to the presence of chronic cough and phlegm. American journal of respiratory and critical care medicine, 175(1), 32–39.

DeMo, D. L., Hersh, C. P., Hoffman, E. A., Litonjua, A. A., Lazarus, R., Sparrow, D., Benditt, J. O., Criner, G., Make, B., Martinez, F. J., Scanlon, P. D., Sciurba, F. C., Utz, J. P., Reilly, J. J., & Silverman, E. K. (2007). Genetic determinants of emphysema distribution in the national emphysema treatment trial. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *176*(1), 42–48.

Di Comite, G., Grazia Sabbadini, M., Corti, A., Rovere-Querini, P., & Manfredi, A. A. (2007). Conversation galante: How the immune and the neuroendocrine systems talk to each other. *Autoimmunity Reviews*, *7*(1), 23–29.

Di Meo, S., Reed, T. T., Venditti, P., & Victor, V. M. (2016). Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2016*.

Di Stefano, A., Capelli, A., Lusuardi, M., Caramori, G., Balbo, P., Ioli, F., Sacco, S., Gnemmi, I., Brun, P., Adcock, I. M., Balbi, B., Barnes, P. J., Chung, K. F., & Donner, C. F. (2001). Decreased T lymphocyte infiltration in bronchial biopsies of subjects with severe chronic obstructive pulmonary disease. *Clinical and Experimental Allergy*, *31*(6), 893–902.

Di Stefano, A., Caramori, G., Gnemmi, I., Contoli, M., Vicari, C., Capelli, A., Magno, F., D'Anna, S. E., Zanini, A., Brun, P., Casolari, P., Chung, K. F., Barnes, P. J., Papi, A., Adcock, I., & Balbi, B. (2009). T helper type 17-related cytokine expression is increased in the bronchial mucosa of stable chronic obstructive pulmonary disease patients. *Clinical and Experimental Immunology*, *157*(2), 316–324.

Di Stefano, A., Caramori, G., Oates, T., Capelli, A., Lusuardi, M., Gnemmi, I., Ioli, F., Chung, K. F., Donner, C. F., Barnes, P. J., & Adcock, I. M. (2002). Increased expression of nuclear factor-κB in bronchial biopsies from smokers and patients with COPD. *European Respiratory Journal*, *20*(3), 556–563.

Dröge Wulf. (2002). Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, *82*(1), 47–95.

Evans, M. D., & Cooke, M. S. (2004). Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. *BioEssays*, *26*(5), 533–542.

Fortis, S., Comellas, A., Kim, V., Casaburi, R., Hokanson, J. E., Crapo, J. D., Silverman, E. K., & Wan, E. S. (2020). Low FVC/TLC in Preserved Ratio Impaired Spirometry (PRISm) is associated with features of and progression to obstructive lung disease. *Scientific Reports*, *10*(1).

Fox, S., Leitch, A. E., Duffin, R., Haslett, C., & Rossi, A. G. (2010). Neutrophil apoptosis: Relevance to the innate immune response and inflammatory disease. *Journal of Innate Immunity*, *2*(3), 216–227.

Freeman, C. M., McCubbrey, A. L., Crudgington, S., Nelson, J., Martinez, F. J., Han, M. L. K., Washko, G. R., Chensue, S. W., Arenberg, D. A., Meldrum, C. A., McCloskey, L., & Curtis, J. L. (2014). Basal gene expression by lung CD4+ T cells in chronic

obstructive pulmonary disease identifies independent molecular correlates of airflow obstruction and emphysema extent. *PLoS ONE*, *9*(5).

Galbán, C. J., Han, M. K., Boes, J. L., Chughtai, K. A., Meyer, C. R., Johnson, T. D., Galbán, S., Rehemtulla, A., Kazerooni, E. A., Martinez, F. J., & Ross, B. D. (2012). Computed tomography-based biomarker provides unique signature for diagnosis of COPD phenotypes and disease progression. *Nature Medicine*, *18*(11), 1711–1715.

García-Sánchez, A., Miranda-Díaz, A. G., & Cardona-Muñoz, E. G. (2020). The Role of Oxidative Stress in Physiopathology and Pharmacological Treatment with Pro- And Antioxidant Properties in Chronic Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2020*.

GBD 2017 Causes of Death Collaborators (2018). Global, regional, and national age-sex-specific mortality for 282 causes of death in 195 countries and territories, 1980-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. Lancet (London, England), 392(10159), 1736–1788.

George, S., & Abrahamse, H. (2020). Redox potential of antioxidants in cancer progression and prevention. *Antioxidants*, *9*(11), 1–21.

Goldkorn, T., & Filosto, S. (2010). Lung injury and cancer: Mechanistic insights into ceramide and EGFR signaling under cigarette smoke. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, *43*(3), 259–268.

Gu, X., Karp, P. H., Brody, S. L., Pierce, R. A., Welsh, M. J., Holtzman, M. J., & Ben-Shahar, Y. (2014). Chemosensory functions for pulmonary neuroendocrine cells. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, *50*(3), 637–646.

Gulcev, M., Reilly, C., Griffin, T. J., Broeckling, C. D., Sandri, B. J., Witthuhn, B. A., Hodgson, S. W., Woodruff, P. G., & Wendt, C. H. (2016). Tryptophan catabolism in acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *International Journal of COPD*, *11*(1), 2435–2446.

Halpin, D. M. G., Celli, B. R., Criner, G. J., Frith, P., Victorina López Varela, M., Salvi, S., Vogelmeier, C. F., Chen, R., Mortimer, K., Montes de Oca, M., Aisanov, Z., Obaseki,

D., Decker, R., & Agusti, A. (2019). It is time for the world to take COPD seriously: A statement from the GOLD board of directors. *European Respiratory Journal*, *54*(1).

Halwani, R., Al-Muhsen, S., & Hamid, Q. (2013). T helper 17 cells in airway diseases from laboratory bench to bedside. *Chest*, *143*(2), 494–501.

Hansel, N. N., Putcha, N., Woo, H., Peng, R., Diette, G. B., Fawzy, A., Wise, R. A., Romero, K., Davis, M. F., Rule, A. M., Eakin, M. N., Breysse, P. N., McCormack, M. C., & Koehler, K. (2021). Randomized Clinical Trial of Air Cleaners to Improve Indoor Air Quality and COPD Health: Results of the CLEAN AIR STUDY. *SSRN Electronic Journal*.

Hewitt, R., Farne, H., Ritchie, A., Luke, E., Johnston, S. L., & Mallia, P. (2016). The role of viral infections in exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease and asthma. *Therapeutic Advances in Respiratory Disease*, *10*(2), 158–174.

Hogg, J. C., Chu, F., Utokaparch, S., Woods, R., Elliott, W. M., Buzatu, L., Cherniack, R. M., Rogers, R. M., Sciurba, F. C., Coxson, H. O., & Paré, P. D. (2004). The Nature of Small-Airway Obstruction in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *New England Journal of Medicine*, *351*(13), 1367–1367.

Hogg, J. C., Chu, F. S. F., Tan, W. C., Sin, D. D., Patel, S. A., Pare, P. D., Martinez, F. J., Rogers, R. M., Make, B. J., Criner, G. J., Cherniack, R. M., Sharafkhaneh, A., Luketich, J. D., Coxson, H. O., Elliott, W. M., & Sciurba, F. C. (2007). Survival after lung volume reduction in chronic obstructive pulmonary disease: Insights from small airway pathology. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *176*(5), 454–459.

Hogg, J. C., & Timens, W. (2009). The pathology of chronic obstructive pulmonary disease. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, *4*, 435–459.

Igishi, T., Hitsuda, Y., Kato, K., Sako, T., Burioka, N., Yasuda, K., Sano, H., Shigeoka, Y., Nakanishi, H., & Shimizu, E. (2003). Elevated urinary 8-hydroxydeoxyguanosine, a biomarker of oxidative stress, and lack of association with antioxidant vitamins in chronic obstructive pulmonary disease. *Respirology*, *8*(4), 455–460.

Isajevs, S., Taivans, I., Strazda, G., Kopeika, U., Bukovskis, M., Gordjusina, V., & Kratovska, A. (2009). Decreased FOXP3 expression in small airways of smokers with COPD. *European Respiratory Journal*, *33*(1), 61–67.

John E., M., Ren, Y., Masaru, S., Nazgol, S., W. Mark, E., Pablo G., S., Alexander C., W., Warren B., G., Leslie, L., Harvey O., C., Peter D., P., Don D., S., Richard A., P., Jason C., W., Annette M., M., John R., M., Stephen C., L., Cooper, J. D., & James C., H. (2011). Small-airway obstruction and emphysema in chronic obstructive pulmonary disease. *New England Journal of Medicine*, *365*, 1567–1575.

Joppa, P., Petrášová, D., Stančák, B., Dorková, Z., & Tkáčová, R. (2007). Oxidative stress in patients with COPD and pulmonary hypertension. *Wiener Klinische Wochenschrift*, *119*(13–14), 428–434.

Kalathil, S. G., Lugade, A. A., Pradhan, V., Miller, A., Parameswaran, G. I., Sethi, S., & Thanavala, Y. (2014). T-regulatory cells and programmed death 1+ T cells contribute to effector T-Cell dysfunction in patients with chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *190*(1), 40–50.

Karamalakova, Y., Stefanov, I., Georgieva, E., & Nikolova, G. (2022). Pulmonary Protein Oxidation and Oxidative Stress Modulation by Lemna minor L. in Progressive Bleomycin-Induced Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Antioxidants*, *11*(3).

Kasahara, Y., Tuder, R. M., Taraseviciene-Stewart, L., Le Cras, T. D., Abman, S., Hirth, P. K., Waltenberger, J., & Voelkel, N. F. (2000). Inhibition of VEGF receptors causes lung cell apoptosis and emphysema. *Journal of Clinical Investigation*, *106*(11), 1311–1319.

Kehrer, J. P. (1993). Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Critical Reviews in Toxicology*, *23*(1), 21–48.

Kirkham, P. A., Adcock, I. M., Chung, K. F., Barnes, P. J., Yeadon, M., Caramori, G., & Papi, A. (2012). Oxidative Stress–induced Antibodies to Carbonyl-modified Protein Correlate with Severity of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *185*(9), 1026–1027.

Kirkham, P. A., & Barnes, P. J. (2013). Oxidative Stress in COPD. *Chest*, *144*(1), 266–273.

Lange, P., Celli, B., Agustí, A., Boje Jensen, G., Divo, M., Faner, R., Guerra, S., Marott, J. L., Martinez, F. D., Martinez-Camblor, P., Meek, P., Owen, C. A., Petersen, H., Pinto-Plata, V., Schnohr, P., Sood, A., Soriano, J. B., Tesfaigzi, Y., & Vestbo, J. (2015). Lung-Function Trajectories Leading to Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *New England Journal of Medicine*, *373*(2), 111–122.

Lee, S. H., Goswami, S., Grudo, A., Song, L. Z., Bandi, V., Goodnight-White, S., Green, L., Hacken-Bitar, J., Huh, J., Bakaeen, F., Coxson, H. O., Cogswell, S., Storness-Bliss, C., Corry, D. B., & Kheradmand, F. (2007). Antielastin autoimmunity in tobacco smoking-induced emphysema. *Nature Medicine*, *13*(5), 567–569.

Lee, Y. G., Lee, P. H., Choi, S. M., An, M. H., & Jang, A. S. (2021). Effects of air pollutants on airway diseases. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *18*(18).

Li, X., Zhang, W., Cao, Q., Wang, Z., Zhao, M., Xu, L., & Zhuang, Q. (2020). Mitochondrial dysfunction in fibrotic diseases. *Cell Death Discovery*, *6*(1).

Liu, Y., Zhuo, A., Liu, W., Xu, S., & Li, S. (2014). The -33C/T polymorphism in the interleukin 4 gene is associated with asthma risk: A meta-analysis. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, *24*(2), 114–121.

Lubos, E., Loscalzo, J., & Handy, D. E. (2011). Glutathione peroxidase-1 in health and disease: From molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxidants and Redox Signaling*, *15*(7), 1957–1997.

Lucchini, R. E., Facchini, F., Turato, G., Saetta, M., Caramori, G., Ciaccia, A., Maestrelli, P., Springall, D. R., Polak, J. M., Fabbri, L., & Mapp, C. E. (1997). Increased VIP-positive nerve fibers in the mucous glands of subjects with chronic bronchitis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *156*(6), 1963–1968.

Meier, M. A., Ottiger, M., Vögeli, A., Steuer, C., Bernasconi, L., Thomann, R., Christ-Crain, M., Henzen, C., Hoess, C., Zimmerli, W., Huber, A., Mueller, B., & Schuetz, P. (2017). Activation of the Serotonin Pathway is Associated with Poor Outcome in

COPD Exacerbation: Results of a Long-Term Cohort Study. Lung, 195(3), 303–311.

MacNee, W. (2005). Pulmonary and systemic oxidant/antioxidant imbalance in chronic obstructive pulmonary disease. *Proceedings of the American Thoracic Society*, *2*(1), 50–60.

Maluf, S. W., Mergener, M., Dalcanale, L., Costa, C. C., Pollo, T., Kayser, M., da Silva, L. B., Pra, D., & Teixeira, P. J. Z. (2007). DNA damage in peripheral blood of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, *626*(1–2), 180–184.

Maneechotesuwan, K. *Decreased indoleamine 2 , 3-dioxygenase activity and IL-10 / IL-17A ratio in COPD patients : Online Supplement*.

Marco, F., Reggente, M., Casanova, F., Santusa, P., Blasi, F., Allegra, L., & Centannia, S. (2006). Anxiety and Depression in COPD Patients: The Roles Of Gender and Disease Severity. *Respiratory Medicine*, *100*, 1767–1774.

Martińez-García, M. A., Carrillo, D. D. L. R., Soler-Catalunã, J. J., Donat-Sanz, Y., Serra, P. C., Lerma, M. A., Ballestiń, J., Sańchez, I. V., Ferrer, M. J. S., Dalfo, A. R., & Valdecillos, M. B. (2013). Prognostic value of bronchiectasis in patients with moderate-to-severe chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *187*(8), 823–831.

Martinez, F. D. (2016). Early-Life Origins of Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *New England Journal of Medicine*, *375*(9), 871–878.

Martinez, F. J., Agusti, A., Celli, B. R., Han, M. K., Allinson, J. P., Bhatt, S. P., Calverley, P., Chotirmall, S. H., Chowdhury, B., Darken, P., Da Silva, C. A., Donaldson, G., Dorinsky, P., Dransfield, M., Faner, R., Halpin, D. M., Jones, P., Krishnan, J. A., Locantore, N., Martinez, F. D., … Wedzicha, J. A. (2022). Treatment Trials in Young Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Pre-Chronic Obstructive Pulmonary Disease Patients: Time to Move Forward. American journal of respiratory and critical care medicine, 205(3), 275–287.

Marwick, J. A., Stevenson, C. S., Giddings, J., MacNee, W., Butler, K., Rahman, I., &

Kirkham, P. A. (2006). Cigarette smoke disrupts VEGF165-VEGFR-2 receptor signaling complex in rat lungs and patients with COPD: Morphological impact of VEGFR-2 inhibition. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*, *290*(5).

Maurer, J. R. (2010). The Natural History of Chronic Airflow Obstruction Revisited: An Analysis of the Framingham Offspring Cohort. *Yearbook of Pulmonary Disease*, *2010*, 80–82.

May, R. D., & Fung, M. (2015). Strategies targeting the IL-4/IL-13 axes in disease. *Cytokine*, *75*(1), 89–116.

McAllister, D. A., Ahmed, F. S., Austin, J. H. M., Henschke, C. I., Keller, B. M., Lemeshow, A., Reeves, A. P., Mesia-Vela, S., Pearson, G. D. N., Shiau, M. C., Schwartz, J. E., Yankelevitz, D. F., & Graham Barr, R. (2014). Emphysema predicts hospitalisation and incident airflow obstruction among older smokers: A prospective cohort study. *PLoS ONE*, *9*(4).

Meier, M. A., Ottiger, M., Vögeli, A., Steuer, C., Bernasconi, L., Thomann, R., Christ-Crain, M., Henzen, C., Hoess, C., Zimmerli, W., Huber, A., Mueller, B., & Schuetz, P. (2017). Activation of the tryptophan/serotonin pathway is associated with severity and predicts outcomes in pneumonia: Results of a long-term cohort study. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, *55*(7), 1060–1069.

Miotto, D., Boschetto, P., Bononi, I., Zeni, E., Cavallesco, G., Fabbri, L. M., & Mapp, C. E. (2004). Vasoactive intestinal peptide receptors in the airways of smokers with chronic bronchitis. *European Respiratory Journal*, *24*(6), 958–963.

Montaño, M., Cisneros, J., Ramírez-Venegas, A., Pedraza-Chaverri, J., Mercado, D., Ramos, C., & Sansores, R. H. (2010). Malondialdehyde and superoxide dismutase correlate with FEV1 in patients with COPD associated with wood smoke exposure and tobacco smoking. *Inhalation Toxicology*, *22*(10), 868–874.

Moussa, Z., M.A. Judeh, Z., & A. Ahmed, S. (2020). Nonenzymatic Exogenous and Endogenous Antioxidants. *Free Radical Medicine and Biology*.

Mudway, I. S., & Kelly, F. J. (2000). Ozone and the lung: A sensitive issue. *Molecular Aspects of Medicine*, *21*(1–2), 1–48.

Murray, C. J., Atkinson, C., Bhalla, K., Birbeck, G., Burstein, R., Chou, D., Dellavalle, R., Danaei, G., Ezzati, M., Fahimi, A., Flaxman, D., Foreman, Gabriel, S., Gakidou, E., Kassebaum, N., Khatibzadeh, S., Lim, S., Lipshultz, S. E., London, S., Lopez, … U.S. Burden of Disease Collaborators (2013). The state of US health, 1990-2010: burden of diseases, injuries, and risk factors. JAMA, 310(6), 591–608.

Nagai, A., West, W. W., & Thurlbeck, W. M. (1985). The National Institutes of Health intermittent positive-pressure breathing trial: Pathology studies: II. Correlation between morphologic findings, clinical findings, and evidence of expiratory air-flow obstruction. *American Review of Respiratory Disease*, *132*(5), 946–953.

National Institute of Health, World Health Organization (2008). *Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD) : Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease.* 1–111.

Naz, S., Kolmert, J., Yang, M., Reinke, S. N., Kamleh, M. A., Snowden, S., Heyder, T., Levänen, B., Erle, D. J., Sköld, C. M., Wheelock, Å. M., & Wheelock, C. E. (2017). Metabolomics analysis identifies sex-associated metabotypes of oxidative stress and the autotaxin–lysoPA axis in COPD. *European Respiratory Journal*, *49*(6).

Negre-Salvayre, A., Coatrieux, C., Ingueneau, C., & Salvayre, R. (2008). Advanced lipid peroxidation end products in oxidative damage to proteins. Potential role in diseases and therapeutic prospects for the inhibitors. *British Journal of Pharmacology*, *153*(1), 6–20.

O'Donnell, R. A., Richter, A., Ward, J., Angco, G., Mehta, A., Rousseau, K., Swallow, D. M., Holgate, S. T., Djukanovic, R., Davies, D. E., & Wilson, S. J. (2004). Expression of ErbB receptor and mucins in the airways of long term current smokers. *Thorax*, *59*(12), 1032–1040.

Oakley, R. H., & Cidlowski, J. A. (2013). The biology of the glucocorticoid receptor: New signaling mechanisms in health and disease. *Journal of Allergy and Clinical*

Immunology, *132*(5), 1033–1044.

Olloquequi, J., Montes, J. F., Prats, A., Rodríguez, E., Montero, M. A., García-Valero, J., & Ferrer, J. (2011). Significant increase of CD57+ cells in pulmonary lymphoid follicles of COPD patients. *European Respiratory Journal*, *37*(2), 289–298.

Paggiaro, P. L., Bartoli, M. L., Novelli, F., Costa, F., Malagrin, L., Melosini, L., Bacci, E., Cianchetti, S., Dente, F. L., Di Franco, A., & Vagaggini, B. (2011). Malondialdehyde in exhaled breath condensate as a marker of oxidative stress in different pulmonary diseases. *Mediators of Inflammation*, *2011*.

Papi, A., Luppi, F., Franco, F., & Fabbri, L. M. (2006). Pathophysiology of exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Proceedings of the American Thoracic Society*, *3*(3), 245–251.

Patel, M. (2016). Targeting Oxidative Stress in Central Nervous System Disorders. *Trends in Pharmacological Sciences*, *37*(9), 768–778.

Pérez-Padilla, R., Regalado, J., Vedal, S., Paré, P., Chapela, R., Sansores, R., & Selman, M. (1996). Exposure to biomass smoke and chronic airway disease in Mexican women: A case-control study. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *154*(3 I), 701–706.

Perez, T. A., Castillo, E. G., Ancochea, J., Pastor Sanz, M. T., Almagro, P., Martínez-Camblor, P., Miravitlles, M., Rodríguez-Carballeira, M., Navarro, A., Lamprecht, B., Ramírez-García Luna, A. S., Kaiser, B., Alfageme, I., Casanova, C., Esteban, C., Soler-Cataluña, J. J., De-Torres, J. P., Celli, B. R., Marin, J. M., … Soriano, J. B. (2020). Sex differences between women and men with COPD: A new analysis of the 3CIA study. *Respiratory Medicine*, *171*.

Pertovaara, M., Heliövaara, M., Raitala, A., Oja, S. S., Knekt, P., & Hurme, M. (2006). The activity of the immunoregulatory enzyme indoleamine 2,3-dioxygenase is decreased in smokers. *Clinical and Experimental Immunology*, *145*(3), 469–473.

Peter, J. (2006). Against the Dutch Hypothesis: Asthma and Chronic obstructive pulmonary disease are distinct diseases. *American Journal of Respiratory and Critical Care*

Medicine, *174*, 240–244.

Polverino, F., Baraldo, S., Bazzan, E., Agostini, S., Turato, G., Lunardi, F., Balestro, E., Damin, M., Papi, A., Maestrelli, P., Calabrese, F., & Saetta, M. (2010). A novel insight into adaptive immunity in chronic obstructive pulmonary disease: B cell activating factor belonging to the tumor necrosis factor family. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *182*(8), 1011–1019.

Postma, D. S., Reddel, H. K., ten Hacken, N. H. T., & van den Berge, M. (2014). Asthma and chronic obstructive pulmonary disease: Similarities and differences. *Clinics in Chest Medicine*, *35*(1), 143–156.

Rahman, I., & MacNee, W. (2012). Antioxidant pharmacological therapies for COPD. *Current Opinion in Pharmacology*, *12*(3), 256–265.

Rahman, I., Morrison, D., Donaldson, K., & MacNee, W. (1996). Systemic oxidative stress in asthma, COPD, and smokers. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *154*(4), 1055–1060.

Ramírez-Venegas, A., Sansores, R. H., Quintana-Carrillo, R. H., Velázquez-Uncal, M., Hernandez-Zenteno, R. J., Sánchez-Romero, C., Velazquez-Montero, A., & Flores-Trujillo, F. (2014). FEV1 decline in patients with chronic obstructive pulmonary disease associated with biomass exposure. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *190*(9), 996–1002.

Repine JE, Bast A, L. I. (1997). Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. Oxidative Stress Study Group. *Am J Respir Crit Care Med*, *156*, 341–357.

Roos, A. B., Sandén, C., Mori, M., Bjermer, L., Stampfli, M. R., & Erjefält, J. S. (2015). IL-17A is elevated in end-stage chronic obstructive pulmonary disease and contributes to cigarette smoke-induced lymphoid neogenesis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *191*(11), 1232–1241.

Rowan, S. C., Keane, M. P., Gaine, S., & McLoughlin, P. (2016). Hypoxic pulmonary hypertension in chronic lung diseases: Novel vasoconstrictor pathways. *The Lancet Respiratory Medicine*, *4*(3), 225–236.

Russell, R. E. K., Thorley, A., Culpitt, S. V., Dodd, S., Donnelly, L. E., Demattos, C., Fitzgerald, M., & Barnes, P. J. (2002). Alveolar macrophage-mediated elastolysis: Roles of matrix metalloproteinases, cysteine, and serine proteases. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*, *283*(4 27-4).

Saetta, M., Turato, G., Baraldo, S., Zanin, A., Braccioni, F., Mapp, C. E., Maestrelli, P., Cavallesco, G., Papi, A., & Fabbri, L. M. (2000). Goblet cell hyperplasia and epithelial inflammation in peripheral airways of smokers with both symptoms of chronic bronchitis and chronic airflow limitation. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *161*(3 I), 1016–1021.

Sajjan, U. S., Jia, Y., Newcomb, D. C., Bentley, J. K., Lukacs, N. W., LiPuma, J. J., Hershenson, M. B., Sajjan, U. S., Jia, Y., Newcomb, D. C., Bentley, J. K., Lukacs, N. W., LiPuma, J. J., & Hershenson, M. B. (2006). H. influenzae potentiates airway epithelial cell responses to rhinovirus by increasing ICAM-1 and TLR3 expression. *The FASEB Journal*, *20*(12), 2121–2123. https://doi.org/10.1096/fj.06-5806fje

Salazar, L. M., & Herrera, A. M. (2011). Fibrotic response of tissue remodeling in COPD. *Lung*, *189*(2), 101–109. https://doi.org/10.1007/s00408-011-9279-2

Sanchez-Salcedo, P., Divo, M., Casanova, C., Pinto-Plata, V., De-Torres, J. P., Cote, C., Cabrera, C., Zagaceta, J., Rodriguez-Roisin, R., Zulueta, J. J., Marin, J. M., & Celli, B. (2014). Disease progression in young patients with COPD: Rethinking the Fletcher and Peto model. *European Respiratory Journal*, *44*(2), 324–331.

Santos, M. C., Oliveira, A. L., Viegas-Crespo, A. M., Vicente, L., Barreiros, A., Monteiro, P., Pinheiro, T., & Bugalho de Almeida, A. (2004). Systemic markers of the redox balance in chronic obstructive pulmonary disease. *Biomarkers*, *9*(6), 461–469.

Sarıkaya, E., & Doğan, S. (2020). Glutathione Peroxidase in Health and Diseases. *Glutathione System and Oxidative Stress in Health and Disease*.

Scadding, J. G. (1988). Health and disease: what can medicine do for philosophy? *Journal of Medical Ethics*, *14*(3), 118–124.

Scadding, J. G. (1996). Essentialism and nominalism in medicine: Logic of diagnosis in

disease terminology. *Lancet*, *348*(9027), 594–596.

Sena, L. A., & Chandel, N. S. (2012). Physiological roles of mitochondrial reactive oxygen species. *Molecular Cell*, *48*(2), 158–167.

Senhorini, A., Ferreira, D. S., Shiang, C., Silva, L. F. F., Dolhnikoff, M., Gelb, A. F., & Mauad, T. (2013). Airway dimensions in fatal asthma and fatal COPD: Overlap in older patients. *COPD: Journal of Chronic Obstructive Pulmonary Disease*, *10*(3), 348–356.

Shibata, S., Miyake, K., Tateishi, T., Yoshikawa, S., Yamanishi, Y., Miyazaki, Y., Inase, N., & Karasuyama, H. (2018). Basophils trigger emphysema development in a murine model of COPD through IL-4–mediated generation of MMP-12–producing macrophages. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *115*(51), 13057–13062.

Siena, L., Gjomarkaj, M., Elliot, J., Pace, E., Bruno, A., Baraldo, S., Saetta, M., Bonsignore, M. R., & James, A. (2011). Reduced apoptosis of CD8+ T-Lymphocytes in the airways of smokers with mild/moderate COPD. *Respiratory Medicine*, *105*(10), 1491–1500.

Silvers, G. W., Maisel, J. C., Petty, T. L., & Mitchell, R. S. (1973). Reduction in peripheral airway resistance in excised emphysematous lungs. *Chest*, *63*.

Singh, S., Verma, S. K., Kumar, S., Ahmad, M. K., Nischal, A., Singh, S. K., & Dixit, R. K. (2017). Evaluation of Oxidative Stress and Antioxidant Status in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Scandinavian Journal of Immunology*, *85*(2), 130–137.

Sørensen, M., Schins, R. P. F., Hertel, O., & Loft, S. (2005). Transition metals in personal samples of PM2.5 and oxidative stress in human volunteers. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, *14*(5), 1340–1343.

Sotgia, S., Paliogiannis, P., Sotgiu, E., Mellino, S., Zinellu, E., Fois, A. G., Pirina, P., Carru, C., Mangoni, A. A., & Zinellu, A. (2020). Systematic review and meta-analysis of the blood glutathione redox state in chronic obstructive pulmonary disease.

Antioxidants, *9*(11), 1–13.

Stanaway, J. D., Afshin, A., Gakidou, E., Lim, S. S., Abate, D., Abate, K. H., Abbafati, C., Abbasi, N., Abbastabar, H., Abd-Allah, F., Abdela, J., Abdelalim, A., Abdollahpour, I., Abdulkader, R. S., Abebe, M., Abebe, Z., Abera, S. F., Abil, O. Z., Abraha, H. N., … Murray, C. J. L. (2018). Global, regional, and national comparative risk assessment of 84 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks for 195 countries and territories, 1990-2017: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Stu. *The Lancet*, *392*(10159), 1923–1994.

Stojić, S. S., Stanišić, N., Stojić, A., & Šoštarić, A. (2016). Single and combined effects of air pollutants on circulatory and respiratory system-related mortality in Belgrade, Serbia. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues*, *79*(1), 17–27.

Suzuki, T., Yamaya, M., Sekizawa, K., Hosoda, M., Yamada, N., Ishizuka, S., Nakayama, K., Yanai, M., Numazaki, Y., & Sasaki, H. (2001). Bafilomycin A1 inhibits rhinovirus infection in human airway epithelium: Effects on endosome and ICAM-1. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*, *280*(6 24-6).

Suzuki, Y., Suda, T., Yokomura, K., Suzuki, M., Fujie, M., Furuhashi, K., Hahimoto, D., Enomto, N., Fujisawa, T., Nakamura, Y., Inui, N., Nakano, Y., Nakamura, H., & Chida, K. (2011). Serum activity of indoleamine 2,3-dioxygenase predicts prognosis of community-acquired pneumonia. *Journal of Infection*, *63*(3), 215–222.

Taggart, C., Cervantes-Laurean, D., Kim, G., McElvaney, N. G., Wehr, N., Moss, J., & Levine, R. L. (2000). Oxidation of either methionine 351 or methionine 358 in α1-antitrypsin causes loss of anti-neutrophil elastase activity. *Journal of Biological Chemistry*, *275*(35), 27258–27265.

Tashkin, D. P., Celli, B., Senn, S., Burkhart, D., Kesten, S., Menjoge, S., & Decramer, M. (2008). A 4-Year Trial of Tiotropium in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *New England Journal of Medicine*, *359*(15), 1543–1554.

Thompson, A. B., Daughton, D., Robbins, R. A., Ghafouri, M. A., Oeherking, M., &

Rennard, S. I. (1989). Intraluminal airway inflammation in chronic bronchiti. *Am Rev Respir Dis*, *140*, 1527–1537.

Thomson, N. C. (2018). Targeting oxidant-dependent mechanisms for the treatment of respiratory diseases and their comorbidities. *Current Opinion in Pharmacology*, *40*, 1–8.

Toppo, S., Flohé, L., Ursini, F., Vanin, S., & Maiorino, M. (2009). Catalytic mechanisms and specificities of glutathione peroxidases: Variations of a basic scheme. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*, *1790*(11), 1486–1500.

Townend, J., Minelli, C., Mortimer, K., Obaseki, D. O., Al Ghobain, M., Cherkaski, H., Denguezli, M., Gunesekera, K., Hafizi, H., Koul, P. A., Loh, L. C., Nejjari, C., Patel, J., Sooronbayev, T., Buist, S. A., & Burney, P. G. J. (2017). The association between chronic airflow obstruction and poverty in 12 sites of the multinational BOLD study. *European Respiratory Journal*, *49*(6).

Tsoumakidou, M., Tzanakis, N., Chrysofakis, G., Kyriakou, D., & Siafakas, N. M. (2005). Changes in sputum T-lymphocyte subpopulations at the onset of severe exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Respiratory Medicine*, *99*(5), 572–579.

TTD. (2021). *Türk Toraks Derneği'nin GOLD 2021 Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH) Raporuna Bakışı*. 1–75.

Tzanakis, N., Chrysofakis, G., Tsoumakidou, M., Kyriakou, D., Tsiligianni, J., Bouros, D., & Siafakas, N. M. (2004). Induced sputum CD8+ T-lymphocyte subpopulations in chronic obstructive pulmonary disease. *Respiratory Medicine*, *98*(1), 57–65.

Upham, J., & Stick, S. (2006). Interactions Between Airway Epithelial Cells and Dendritic Cells: Implications for the Regulation of Airway Inflammation. *Current Drug Targets*, *7*(5), 541–545.

Urboniene, D., Babusyte, A., Lötvall, J., Sakalauskas, R., & Sitkauskiene, B. (2013). Distribution of γδ and other T-lymphocyte subsets in patients with chronic obstructive pulmonary disease and asthma. *Respiratory Medicine*, *107*(3), 413–423.

Valko, M., Rhodes, C. J., Moncol, J., Izakovic, M., & Mazur, M. (2006). Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions*, *160*(1), 1–40.

van der Strate, B. W., Postma, D. S., Brandsma, C. A., Melgert, B. N., Luinge, M. A., Geerlings, M., Hylkema, M. N., van den Berg, A., Timens, W., & Kerstjens, H. A. (2006). Cigarette smoke-induced emphysema: A role for the B Cell? *Respiratory Medicine: COPD Update*, *1*(4), 142.

van der Vliet, A. (2008). NADPH oxidases in lung biology and pathology: Host defense enzymes, and more. *Free Radical Biology and Medicine*, *44*(6), 938–955.

Voynow, J. A., Young, L. R., Wang, Y., Horger, T., Rose, M. C., & Fischer, B. M. (1999). Neutrophil elastase increases MUC5AC mRNA and protein expression in respiratory epithelial cells. *American Journal of Physiology - Lung Cellular and Molecular Physiology*, *276*(5 20-5).

Wan, E. S., Fortis, S., Regan, E. A., Hokanson, J., Han, M. L. K., Casaburi, R., Make, B. J., Crapo, J. D., DeMeo, D. L., Silverman, E. K., Beaty, T., Begum, F., Castaldi, P. J., Cho, M., Boueiz, A. R., Foreman, M. G., Halper-Stromberg, E., Hayden, L. P., Hersh, C. P., … Ruiz, M. E. (2018). Longitudinal phenotypes and mortality in preserved ratio impaired spirometry in the COPDGene study. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *198*(11), 1397–1405.

Wang, C., Zhou, J., Wang, J., Li, S., Fukunaga, A., Yodoi, J., & Tian, H. (2020). Progress in the mechanism and targeted drug therapy for COPD. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, *5*(1).

Watson, K. E. (2006). Air pollution and heart disease. *Reviews in Cardiovascular Medicine*, *7*(1), 44.

Wheelock, Å. M., Naz, S., Bhat, M., Ståhl, S., Forsslund, H., Sköld, C. M., & Wheelock, C. E. (2019). Dysregulation of the tryptophan pathway evidences gender differences in copd. *Metabolites*, *9*(10).

Xiong, H., Huang, Q., Shuai, T., Zhu, L., Zhang, C., Zhang, M., Wang, Y., & Liu, J.

(2020). Assessment of comorbidities and prognosis in patients with COPD diagnosed with the fixed ratio and the lower limit of normal: A systematic review and meta-analysis. *Respiratory Research*, *21*(1).

Yang, T., Wang, H., Li, Y., Zeng, Z., Shen, Y., Wan, C., Wu, Y., Dong, J., Chen, L., & Wen, F. (2020). Serotonin receptors 5-HTR2A and 5-HTR2B are involved in cigarette smoke-induced airway inflammation, mucus hypersecretion and airway remodeling in mice. *International Immunopharmacology*, *81*.

Yin., W., Robyn., B., Alycia., N., & Siegfired., H. (2018). Superoxide dismutases: Dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *Journal of Cell Biology*, *217*(6), 1915–1928.

Yun, C. W., & Lee, S. H. (2018). The roles of autophagy in cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, *19*(11).

Zhu, J. I. E., Majumdar, S., Yusheng, Q. I. U., Ansari, T., Oliva, A., Kips, J. C., Pauwels, R. A., De Rose, V., & Jeffery, P. K. (2002). Interleukin-4 and interleukin-5 gene expression and inflammation in the mucus-secreting glands and subepithelial tissue of smokers with chronic bronchitis: Lack of relationship with CD8+ cells. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, *164*(12), 2220–2228.

Zinellu, E., Zinellu, A., Pau, M. C., Piras, B., Fois, A. G., Mellino, S., Carru, C., Mangoni, A. A., & Pirina, P. (2021). Glutathione peroxidase in stable chronic obstructive pulmonary disease: A systematic review and meta-analysis. *Antioxidants*, *10*(11).

Zwinderman, M. R. H., De Weerd, S., & Dekker, F. J. (2019). Targeting HDAC complexes in asthma and COPD. *Epigenomes*, *3*(3).

EKLER

EK 1

ETİK KURUL ONAYI

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : E-18920478-050.01.04-2100072722 20.05.2021
Konu : Başvuru İncelemesi(Doç. Dr. Müşerref Hilal Şehitoğlu)

Sayın Doç. Dr. Müşerref Hilal ŞEHİTOĞLU

Yürütücülüğünü yapmış olduğunuz "KOAH Hastalarında Serotonin ile Tip-2 Sitokinlerin ve Oksidatif Stres Belirteçlerinin Genetik ve Biyokimyasal Açıdan Değerlendirilmesi" başlıklı 2011-KAEK-27/2021-E.2100007885 nolu projeniz ile ilgili olarak Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun almış olduğu 10.02.2021 tarih ve 02-01 nolu kararı aşağıdadır.

Bilgilerinize rica ederim.

Karar Tarihi:10.02.2021
Karar No :2020-02

Karar-01)2011-KAEK-27/2021-E.2100007885 no'lu araştırma ile ilgili olarak, Proje yürütücüsü Doç. Dr. Müşerref Hilal ŞEHİTOĞLU' nun çalışması Etik Kurul tarafından değerlendirilmiş olup; yapılan oylamada **"ETİK KURUL ONAYINI ALIR"** kararı verilmiştir.

Prof. Dr. Coşkun SILAN
Kurul Başkanı

EK 2
HASTA ANKETİ

SURVEY

CİNSİYET: E/K
YAŞ:
BOY/KİLO:
SİGARA +/-/EX (PAKET/YIL):
KRONİK HASTALIKLAR?:
SSRI/SNRI/TCA/MAOi KULLANIMI?

Derece	Tanım
0	Sadece ağır egzersiz sırasında nefesim daralıyor.
1	Sadece düz yolda hızlı yürüdüğümde ya da hafif yokuş çıkarken nefesim daralıyor.
2	Nefes darlığım nedeniyle düz yolda kendi yaşıtlarıma göre daha yavaş yürümek ya da ara ara durup dinlenmek zorunda kalıyorum.
3	Düz yolda 100 metre ya da birkaç dakika yürüdükten sonra nefesim daralıyor ve duruyorum.
4	Nefes darlığım yüzünden evden çıkamıyorum veya giyinip soyunurken nefes darlığım oluyor.

