

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GÖĞÜS HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**KRONİK OBSTRÜKTİF AKCİĞER HASTALIĞI'NIN
ŞİDDETİ İLE PROLİDAZ VE OKSİDATİF STRES
DÜZEYİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN
ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Elvin ÇETİNER

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Funda YALÇIN

**ŞANLIURFA
2012**

**T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
GÖĞÜS HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**KRONİK OBSTRÜKTİF AKCİĞER HASTALIĞI'NIN
ŞİDDETİ İLE PROLİDAZ VE OKSİDATİF STRES
DÜZEYİ ARASINDAKİ İLİŞKİNİN
ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Elvin ÇETİNER

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Funda YALÇIN

**Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Kurulu (HÜBAK) tarafından
2011/1189 proje numarası ile desteklenmiştir.**

ŞANLIURFA

2012

TEŞEKKÜR

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları kliniğindeki uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde büyük emeği geçen, her türlü konuda desteğini esirgemeyen, tecrübe ve deneyimlerinden çok şey kazandığım değerli Hocam Doç. Dr. Mehmet GENCER, hocalarım Yrd. Doç. Dr. Zafer Hasan Ali SAK ve Yrd. Doç. Dr. Funda YALÇIN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimimin bir döneminde bizimle olan bilgi ve tecrübelerinden yararlanma fırsatı bulduğum Doç. Dr. Erkan CEYLAN ve Yrd Doç. Dr. Elif KÖSE'ye de ayrıca teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımıdaki katkılarından dolayı Biyokimya Anabilimdalı'ndaki kıymetli hocam Prof. Dr. Nurten AKSOY'a ayrıca teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar çalışmaları esnasındaki yardımları ve özellikle içten dostluklarından dolayı istatistiksel analiz konusunda sabrını ve yardımını esirgemeyen Öğr. Gör. Abdullah TAŞKIN'a ve tüm Biyokimya A.D. çalışanlarına teşekkür ederim.

Pek çok sıkıntıyı birlikte aştığımız ve pek çok güzelliği paylaştığımız değerli arkadaşlarım Göğüs Hastalıkları Kliniği asistanlarına, hemşirelerine ve personeline de ayrıca teşekkür ederim.

Son olarak asistanlık eğitimim boyunca her türlü destek ve katkılarını esirgemeyen değerli eşim Ahmet ÇETİNER'e, anneme, babama, anneanneme, kayınvalideme, biricik kızım Ayşe ve oğlum Furkan'a sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Dr. Elvin ÇETİNER

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR	vi
TABLO LİSTESİ	viii
ŞEKİL LİSTESİ	ix
GRAFİK LİSTESİ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. KOAH	2
2.1.1. Tanım	2
2.1.2. Epidemiyoloji	3
2.1.3. Prevalans	3
2.1.4. Morbidite	4
2.1.5. Mortalite	4
2.1.6. KOAH'da Risk Faktörleri	4
2.1.6.1. Genetik Faktörler	5
2.1.6.2. Sigara	5
2.1.6.3. Çevresel ve Mesleki Maruziyet	6
2.1.6.4. İç ve Dış Ortam Hava Kirliliği	6
2.1.6.5. Akciğer Gelişimine Etkili Faktörler	7
2.1.6.6. Havayolu Hiperreaktivitesi ve Astım	7
2.1.7. Patoloji	7
2.1.8. Patogenez	9
2.1.9. Fiziopatoloji	10
2.1.10. KOAH'da Sistemik Etkiler	11
2.1.10.1. Sistemik Enflamasyon ve Komorbiditeler	12
2.1.10.2. İskelet Kas Güçsüzlüğü	12
2.1.10.3. Vücut Kompozisyon Anormalliklerinin Tedavisi	12
2.1.10.4. KOAH ve Kardiyovasküler Hastalıklar	13
2.1.10.5. Metabolik Sendrom ve Diabetes Mellitus	13
2.1.10.6. Osteoporoz	13

2.1.10.7. Akciğer Kanseri	13
2.1.10.8. Anemi	14
2.1.10.9. Obstrüktif Uyku Apne Sendromu (OSAS)	14
2.1.10.10. Depresyon	14
2.1.11. Klinik Değerlendirme	14
2.1.11.1. Semptomlar	14
2.1.11.2. Klinik Bulgular	16
2.1.12. Tanısal Yaklaşım	16
2.1.12.1. Solunum Fonksiyon Testleri	16
2.1.12.2. Arter Kan Gazları	18
2.1.12.3. Radyolojik Bulgular	18
2.1.13. Tanı	19
2.1.14. KOAH Ayırıcı Tanısı	20
2.1.15. Prognoz	21
2.1.16. Tedavi	22
2.2. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ	22
2.2.1. Serbest Radikaller ve Oluşumu	23
2.2.1.1. Süperoksit Radikali (O ₂ ⁻)	24
2.2.1.2. Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂)	24
2.2.1.3. Hidroksil Radikali (OH)	25
2.2.1.4. Singlet Oksijen (1O ₂)	25
2.2.1.5. Nitrik Oksit (NO)	25
2.2.1.6. Peroksinitrit (ONOO ⁻)	26
2.2.2. Serbest Radikallerin etkileri	26
2.2.2.1. Membran Lipidleri Üzerine Olan Etkileri	26
2.2.2.2. Proteinler Üzerine Olan Etkileri	27
2.2.2.3. Karbohidratlar Üzerine Olan Etkileri	27
2.2.2.4. Nükleik Asitler Üzerine Olan Etkileri	27
2.2.3. İnsan Vücudunda Serbest radikallerin hedef organları	28
2.3. ANTİOKSİDANLAR	29
2.3.1. Antioksidan sistemler	29
2.3.2. Antioksidan etki tipleri	29
2.3.3. İntraselüler antioksidan komponentler	30

2.3.3.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	30
2.3.3.2. Katalaz (CAT)	30
2.3.3.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx)	31
2.3.3.4. Glutasyon Redüktaz (GSSGR)	31
2.3.3.5. Redükte Glutasyon (GSH)	31
2.3.4. Membran antioksidanları	31
2.3.5. Ekstraselüler antioksidanlar	32
2.3.6. Total antioksidan seviye (TAS)	32
2.3.7. Total oksidan seviye (TOS)	33
2.3.8. Oksidatif stres indeksi (OSI)	33
2.4. PROLİDAZ	33
2.4.1. Prolidazın tanımı	33
2.4.2. Prolidazın Yapısı	34
2.4.3. İnsan Prolidazının Primer Yapısı ve Gen Lokalizasyonu	34
2.4.4. Prolidazın İzoenzimleri	35
2.4.5. Prolidazın İnhibitör ve Aktivatörleri	37
2.4.6. Prolin	37
2.4.7. Prolinin Yapısal Özellikleri	38
2.4.8. Prolinin Biyolojik Önemi	39
2.4.9. Kollajen	40
2.4.10. Prolidazın Kollajen Yapım ve Yıkımındaki Önemi	40
2.4.11. Prolidazın Hastalıklarla İlişkisi	41
2.4.12. Prolidaz aktivite düzeyinin ölçümünde kullanılan yöntemler	43
3. MATERYAL METOD	44
3.1. Total antioksidan seviye (TAS)	44
3.1.1. Reaktiflerin hazırlanması	45
3.2. Total oksidant seviye (TOS)	45
3.2.1. Reaktiflerin hazırlanması	45
3.3. Oksidatif Stress İndeksi (OSI)	46
3.4. Prolidaz Aktivitesi	46
3.4.1. Kullanılan Araç Gereçler	46
3.4.2. Kullanılan Kimyasallar	47
3.4.3. Prolidaz Aktivitesi ölçümünde kullanılan ayıraçlar	48

3.4.4. Serum Prolidaz aktivitesi ölçüm yöntemi	48
3.4.5. Prolidaz Aktivitesinin hesaplanması	50
3.5. İstatistiksel Analiz	50
4. BULGULAR	51
4.1. Demografik Özellikler	51
4.2. Total Oksidatif Stres (TOS) Sonuçları	53
4.3. Total Antioksidan Kapasite (TAS) Sonuçları	54
4.4. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) Sonuçları	55
4.5. Prolidaz Sonuçları	56
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	57
6. KAYNAKLAR	66

KISALTMALAR

ABTS	2,2'-Azinobis-3-etil BenzoTiazolin-6-Sülfonik asit
BMI	Body Mass İndeks
BT	Bilgisayarlı Tomografi
CAT	Katalaz
CRP	C-Reaktif Protein
DALY	Disability Adjusted Life Year = Sakatlığa Ayarlanmış Yaşam Yılı
DEAE	Dietilaminetil
DLCO	Karbonmonoksit Diffüzyon Kapasitesi
DNA	Deoksiribo Nükleik asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EMV	Evde mekanik ventilasyon
FEV1	Force Expiratory Volume 1= 1. Saniye Zorlu Ekspirasyon Volümü
FRC	Functional Residual Capacity= Fonksiyonel Rezidüel Kapasite
FVC	Force Vital Capacity= Zorlu Vital Kapasite
GOLD	Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease
GPx	Glutatyon Peroksidaz
GSH	Redükte Glutatyon
GSH-Px	Glutatyon peroksidaz
GSSGR	Glutatyon Redüktaz
GST	Glutathione S-Transferase
HDAC	Histon Deasetilaz
HEMOX	Heme Oxygenase 1
HT	Hipertansiyon
IgG	İmmunglobulin G
IL-6	İnterlökin-6
İKS	İnhaler Kortikosteroid
iPEEP	Intrinsic Positive End-Expiratory Pressure =İntrinsik Pozitif End Ekspiratuar Basınc
KOAH	Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
LABA	Uzun etkili β 2 agonist
LPO	Lipid Peroxide
MDA	Malondialdehit

MEP	Maksimal ekspiratuar basınç
Mhpex	Memeli Heme Peroksidaz
MIP	Maksimal inspiratuar basınç
MMPs	Matriks metalloproteinler
MMRC	Modified Medical Research Council
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat H
NHANES III	National Health and Nutrition Examination Survey
OSAS	Obstrüktif Uyku Apne Sendromu
OSİ	Oksidatif stres indeksi
PaCO ₂	Parsiyel Karbondioksit Basıncı
Pemax	Maksimal ekspiratuar basınç
PImax	Maksimal inspiratuar basınç
PR	Pulmoner rehabilitasyon
RNA	Ribo Nükleik Asit
ROS	Reaktif oksijen metabolitleri
RV	Rezidüel Volüm
SFT	Solonum Fonksiyon Testi
SOD	Süperoksit dismutaz
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
TAS	Total Antioksidan Seviye
TGF- β 1	Transforming growth faktör-beta1
TLC	Total Lung Capacity
TNF- α	Tümör nekrozis faktör-alfa
TORCH	TOwards a Revolution in COPD Health (KOAHA'ta devrime doğru hasta sağlığı çalışması)
TOS	Total oksidant seviye
USOT	Uzun Süreli Oksijen Tedavisi
V/Q	Ventilasyon Perfüzyon
VC	Vital Capacity= Vital Kapasite
YÇBT	Yüksek Çözünürlüklü Bilgisayarlı Tomografi
YLD	Years Lost Due to Disability
YLL	Years of Life Lost

TABLO LİSTESİ

	Sayfa
Tablo I. KOAH patolojisinde gözlenen değişiklikler	9
Tablo II. KOAH'da Sistemik Etkilenim	12
Tablo III. KOAH Ayırıcı Tanısı	22
Tablo IV. KOAH'da Spirometrik Sınıflandırma	23
Tablo V. Oksijen Türevi Bileşikler	26
Tablo VI. Fagositlerin Ürettiği Reaktif Oksidan Ürünler	31
Tablo VII. İnsan Prolidaz I ve Prolidaz II İzoenzimlerinin Doku Dağılımları	40
Tablo VIII. Çalışmalar Sırasında Kullanılan Kimyasal Maddeler	51
Tablo IX. Grupların Demografik Özellikleri	55
Tablo X. Grupların TAS, TOS, OSI ve Prolidaz Sonuçları	55
Tablo XI. Evrelerine göre TAS, TOS, OSI ve Prolidaz Değerleri	56

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 1. Makrofajlar, Nötrofiller ve Epitelyal Hücreler Arasındaki Etkileşim	10
Şekil 2. Prolin ve Diğer Bir Amino Asidin Yapısal Görünümü	42
Şekil 3. Prolin Krebs ve Üre Döngüleriyle Metabolik Bağlantısı	43
Şekil 4. Kollajen Yıkımında Prolidaz ve Prolinazın Yeri	45

GRAFİK LİSTESİ

	Sayfa
Grafik-1: Serum Toplam Oksidan Seviye düzeylerinin, kontrol grubu ve KOAH grubu evreleri arasındaki ortalama, standart sapma ve dağılımları.	53
Grafik-2: Serum Toplam Antioksidan Seviye düzeylerinin, kontrol grubu ve KOAH grubu evreleri arasındaki ortalama, standart sapma ve dağılımları	54
Grafik-3: Serum Oksidatif Stres İndeksi düzeylerinin, kontrol grubu ve KOAH grubu evreleri arasındaki ortalama, standart sapma ve dağılımları	55
Grafik-4: Prolidaz enzim aktivitesinin, kontrol grubu ve KOAH grubu evreleri arasındaki ortalama, standart sapma ve dağılımları	56

ÖZET

Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı'nın Şiddeti ile Prolidaz ve Oksidatif Stres Düzeyi Arasındaki İlişkinin Araştırılması

Dr. Elvin ÇETİNER

Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi

AMAÇ: Bu çalışma ile prolidaz aktivite ve total oksidatif stres ve antioksidan kapasite düzeylerinin evrelerine göre KOAH'lı hastalar ve sağlıklı kontrol grup bireylerindeki seviyelerinin ölçülerek var olan düzey farklılığının saptanması amaçlanmaktadır.

GEREÇ VE YÖNTEM: Bu çalışmaya Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi ve Araştırma Hastanesi Göğüs Hastalıkları Polikliniğine başvuran KOAH tanısı konmuş 55 gönüllü erkek hasta ve sigara kullanan fakat KOAH dahil herhangi bir hastalığı olmayan 55 erkek sağlıklı olgu dahil edildi. Klinik olarak tüm hastalar detaylı bir şekilde genel fizik muayeneden geçirildi. Tüm hastalarda KOAH tanısı anamnez genel fizik muayene ve solunum fonksiyon testi uygulanarak kondu ve hastalar spirometri ölçümü sonrası FEV1 değerlerine göre Evre 1, 2, 3 ve 4 olmak üzere (GOLD) 4 evreye ayrıldı. Sağlıklı kontrol grubunda da yine aynı yolla KOAH ve diğer hastalıkların varlığı dışlandı. Çalışma kontrollü, prospektif olarak planlandı ve Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı alındı. Koroner arter hastalığı, Diyabetes Mellitus, kontrolsüz HT, kalp yetmezliği, kronik böbrek ve karaciğer yetmezlikleri olan, romatolojik hastalık ve malignitesi olan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Serum prolidaz enzim düzeyleri manuel metod ile biyokimya laboratuvarında ölçüldü. Total antioksidan kapasite (TAS), total oksidatif durum (TOS) ve oksidatif stres indeksi (OSI), Erel tarafından geliştirilmiş yeni otomatik ölçüm metodu ile çalışıldı. Bütün veriler, benzer yaş ve cinsiyetteki sağlıklı gönüllü bireylerden oluşan kontrol grubundan alınan kan örneklerinin sonuçlarıyla karşılaştırıldı.

BULGULAR: Sigara içimi (Paket/Yıl), yaş ve vücut kitle indeksi açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). KOAH'lı hastaların ortalama TOS değeri kontrol grubuna göre belirgin yüksek bulundu ($p<0.001$). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında evre 1 ve 4 KOAH hasta grubundaki TOS değerleri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı bulundu ($p\leq 0,001$). Benzer şekilde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında Evre 2 ve 3 KOAH hasta grubundaki TOS değerleri de istatistiksel

olarak anlamlı düzeyde farklı bulundu ($p \leq 0,01$). Fakat KOAH hasta grubundaki Evre 1, 2, 3, ve 4 olmak üzere karşılaştırılan evrelerin birbirleri arasında TOS değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p > 0,05$). Ortalama TAS düzeyi kontrol grubu ve KOAH'lı hasta grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p > 0,05$). Hastaların tüm evrelerindeki TAS değeri ile kontrol grubu ve evrelerin birbirleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p > 0,05$). TOS/TAS oranı göz önüne alınarak grupların oksidatif stres indeksi hesaplandı. Evre 1 ve 4 KOAH'lı hastaların OSI değeri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p < 0,001$). Evre 2 ve 3 KOAH'lı hastaların da OSI değeri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksekti ($p < 0,01$). Evre 1, 2, 3 ve 4 hasta grupları arasındaki fark ise istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$). Ortalama prolidaz düzeyi en yüksek kontrol grubundaydı. KOAH'lı hasta gruplarının evresi ile prolidaz ters orantılı olarak değişiyordu. En düşük düzeyler Evre 4 KOAH hastalarında bulunurken en yüksek düzeyler Evre 1 hasta grubunda idi. Evre 1 KOAH'lı hastaların serum prolidaz düzeyi kontrol grubuna göre düşük olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu. Evre 1 ile Evre 4 KOAH'lı hasta grupları arasındaki ortalama prolidaz aktivitesi istatistiksel olarak anlamlı oranda farklı bulundu ($p \leq 0,01$). Evre 1 ile Evre 2 ve Evre 3 KOAH'lı hasta grubundaki prolidaz aktivitesi de istatistiksel olarak anlamlıydı ($p \leq 0,05$). Evre 3 ve 4 KOAH'lı hastaların ortalama prolidaz aktivitesi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşüktü ($p < 0,001$). Evre 2 KOAH'lı hastaların prolidaz aktivitesi kontrol grubundan daha düşük olup istatistiksel olarak anlamlıydı. ($p \leq 0,01$). Diğer evrelerin birbirleri arasında ortalama serum prolidaz aktivitesi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p > 0,05$).

SONUÇLAR: Bulgular işaret ediyor ki oksidan-antioksidan denge ve kollajen turnoveri dolayısı ile plazma prolidaz aktivitesi akciğerdeki KOAH gelişimiyle ilişkilidir. KOAH da prolidaz enzimi aktivitesi kollajen metabolizması bozukluklarını yansıtıyor olabilir. Plazma prolidaz enzimi aktivitesi ve oksidan-antioksidan dengeyi monitörize etmenin fibrotik ve kronik inflamatuvar akciğer hastalıklarındaki oksidatif hasarı değerlendirmede yararlı olabileceği düşünmekteyiz. Ayrıca KOAH hasta grupları spirometrik olarak hastalığın ağırlığına göre 4 gruba ayrıldı (evre 1, 2, 3 ve 4). Plazma prolidaz enzimi aktivitesi ve oksidan kapasite değerleri yönünden KOAH hasta grubu ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardı. Oksidatif stres artışının KOAH'ın evreleri ile ilişkili olmadığı görüldü. Ancak hastaların evreleri arasında istatistiksel olarak

tam bir korelasyon olmasa da evre ilerledikçe plazma prolidaz düzeylerinin düştüğü görüldü. KOAH'ın ağırlığını belirmede kollojen metabolizma markerlarından plazma prolidaz seviyelerinin ölçülmesinin faydalı olabileceğini ancak daha detaylı çalışmaların gerektiğini söyleyebiliriz.

ANAHTAR KELİMELELER: KOAH, TOS, TAS, OSİ, Prolidaz, Kollajen

ABSTRACT

The Researching Of The Relation Between COPD's Severity and Prolidase-Oxidative Stress Level

Dr. Elvin ÇETİNER

Specialization Thesis, Department of Chest Diseases

PURPOSE: This study objects to determine level distinctions comparing healty control group to COPD patients according to its stages with measuring prolidase activity and total oxidative stress and antioxidant stress levels.

METHODS: This study was conducted on 55 volunteer patients who applied to the outpatients department of the Chest Diseases Clinic, Harran University-Research Hospital and diagnosed COPD and also on 55 healthy male smoker volunteers who were compatible by age, sex, weight, but did not have any disease including COPD. All the patients were clinically got through a detailed physical examination. COPD was diagnosed on the basis of anamnesis, physical examination and pulmonary function testing and based on spirometric measurements the patients were divided in four stages as stage 1, 2, 3 and 4 according to their FEV1 ratio. In healty control group, using the same method, the presence of COPD or any other disease were excluded. The study was planned in a controlled and prospective way and was approved by the ethical committee of Harran University Medical Faculty. Those patients with the diseases such as; coronary artery, Diabetes mellitus, uncontrolled HT, congestive heart failure, Chronic renal and liver failure, rheumatologic disease and malignity were excluded from this study. Serum prolidase enzyme levels were measured manually at the biochemistry laboratory. Total antioxidant capacity (TAC), Total oxidant status (TOS), oxidative stress index (OSI) were studied with the new auto measurement method which was developed by EREL. All the data was compared with the results of the blood samples of healty volunteers at smilar ages and sex.

INDICATIONS: Statistically there was not any significant difference about smoking (pack/year) age and body mass index between the groups ($p > 0.05$). The average TOS level of the COPD patients was significantly higher compare to healty control group ($p < 0.001$). TOS levels of the stage1 and stage4 COPD patients were statistically distinctive compare to control group ($p \leq 0,001$). Correlatively the TOS levels of the stage 2 and stage 3 COPD patients group were statistically distinctive compare to control group ($p \leq 0,01$). But there

was not any significant difference between the TOS levels of the stage1, 2, 3, 4 COPD patients group ($p>0.05$). There was not any significant difference between the average TAC level of the COPD patients and the control group ($p>0.05$). There was not any statistically significant difference found between the TAC level of all stages of the COPD patients and among the control group and COPD stages ($p>0.05$). Considering TOS/TAS rate levels, oxidative stress index of the groups were calculated. The OSI rates of the Stage 1 and Stage 4 COPD patients were significantly higher compare to control group ($p<0.001$). The OSI levels of the Stage 2 and stage 3 COPD patients were also significantly higher compare to control group ($p<0.001$). However the statistical difference between the stages 1, 2, 3, 4 COPD patients was not significantly distinctive ($p>0.05$). The highest average prolidase level was at the control group. The rates of COPD patient groups were changing inversely correlated to prolidase. The lowest level found at stage 4 COPD patient group. The average prolidase activity of stage 3 and stage 4 COPD patient group was statistically lower at a significant level compare to control group ($p<0.001$). The prolidase activity of stage 2 COPD patient group was lower than control group and statistically distinctive ($p\leq 0.01$). The average prolidase activity difference between stage 1 and stage 4 COPD patients group was statistically distinctive at a significant level ($p>0.05$). The average prolidase activity of stage 1, stage 2 and stage 3 COPD patients group was statistically significant as well ($p\leq 0.05$). There was not any statistically significant difference between stage 1, stage 2, stage 3 and stage 4 COPD patients at average serum prolidase level ($p>0.05$).

RESULTS: The results indicate that oxidative-antioxidant balance and collagen turnover and so the plasma prolidase activity can change with a progression of COPD at lung. Prolidase activity at the COPD might be reflecting collagen metabolism failure. It was considered that monitoring the plasma prolidase enzyme activity and oxidative antioxidant balance could be helpful to evaluate the oxidative damage at the fibrotic process and chronic inflammatory lung diseases. Furthermore COPD patient groups were spirometrically divided into four stages (stage 1, 2, 3, 4) according to severity of the disease. There was not any significant statistical distinction between the stages and the plasma prolidase enzyme activity and oxidative antioxidant capacity rates ($p>0.05$). Thus, It was determined that the plasma prolidase enzyme activity and oxidant capacity rates can not be used to evaluate the stages of the COPD.

Key words: COPD, TAC, OSI, TAS, prolidase, collagen

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH) yenilenen GOLD (Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease) rehberine göre; akciğer dışı etkileri de olan önlenebilir ve tedavi edilebilir bir hastalıktır. Akciğer komponenti tam olarak geri dönüşümlü olmayan hava akımı kısıtlanması ile karakterizedir. Hava akımı kısıtlanması genellikle progresiftir ve akciğerin, başta sigara olmak üzere, zararlı partikül ve gazlara karşı anormal inflamatuvar yanıtı ile ilişkilidir. Kollagen metabolizmasında bozukluğa sebep olan KOAH hastalarında başta sigara olmak üzere, zararlı toz ve partiküllerin inhalasyonu sonucu inflamatuvar hücrelerden salınan mediatörler aracılığı ile oluşan kronik enflamasyon küçük hava yollarında ve akciğer parankiminde yapısal değişikliklere ve hasara neden olur. Bu inflamatuvar süreç ve parankimal yıkım, alveoler tutamalarda kayba ve akciğerin elastik geri dönüş basıncında azalmaya yol açar.

Bu iritanlar aynı zamanda lipid-protein oksidasyonu ve komşu hücrelerde oksidatif DNA (Deoksiribonükleik asit) hasarına sebep olan serbest oksijen radikallerini üretir. Reaktif oksijen türleri (ROS=Reactive Oxygen Species) tarafından provoke edilen DNA hasarları potansiyel kanserojen gen modifikasyonlarına yol açabilir. KOAH'ta hastalık ROS üretimi ve akciğerde oksidatif strese yol açan artmış nitrik oksit düzeyleri ile ilişkilidir. Artmış oksidatif stres KOAH patogenezinde önemli role sahiptir.

Normal konsantrasyonlarda hücrelerin birçok fizyolojik fonksiyonuna aracılık eden serbest radikaller, hücrelerin antioksidan sistemleri tarafından inaktive edilir. Böylece serbest radikaller ve antioksidan sistemler arasında doğal bir denge vardır. Dengenin serbest radikaller tarafına kayması sonucu ya hücre hasarı ya da hücre ölümü gerçekleşir.

Prolidaz hücre büyümesi ve kollagen sentezi için gereken prolin dönüşümünde önemli role sahiptir. Beslenme ile alınan proteinlerden ve vücuttaki depo kollageninden imino asitlerin geri kazanılmasını sağlar.

Pek çok organ ve doku sistemini etkileyebilen KOAH'da, oksidatif parametreler gibi, yapısal bir eleman olan kollagenin yapım ve yıkım döngüsünün de etkilenmesi beklenebilir. Biz de bu düşünceden hareketle KOAH olan kişilerde oksidatif stress parametreleri ile kollagen turnoveri için bir gösterge olarak kabul edilen prolidaz aktivitesinde değişiklik olup

olmadığını ve aynı zamanda hastalık evresi ile karşılaştırma yaparak bu değişikliğin KOAH hastalarının ağırlığında kullanılabilir bir parametre olup olmadığını değerlendirmeyi planladık.

Literatürde prolidaz enzim aktivitesi ile TOS (Total oksidant seviye), TAS (Total antioksidan seviye) ve OSI'nin (Oksidatif Stress indeksi) değerlendirildiği pek çok çalışmaya rastlanmıştır. Yaptığımız incelemelerde KOAH evrelerine göre oksidatif stres ile prolidaz aktivitesinin değerlendirildiği bir çalışmaya ulaşamadık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. KRONİK OBSTRÜKTİF AKCİĞER HASTALIĞI (KOAH)

2.1.1. Tanım

Önlenebilir ve tedavi edilebilir yaygın bir hastalık olan KOAH hava yollarında ve akciğerde zararlı partikül ya da gazlara karşı güçlü bir kronik enflamatuar yanıtla ilişkili ve genellikle ilerleyici nitelikte kalıcı hava akımı kısıtlanması ile ayırt edilir (1). Hastalığın mortalite ve morbiditesi tüm dünyada giderek artmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre KOAH, 2000 yılında en sık görülen dördüncü ölüm nedeni iken, 2020 yılında üçüncü en sık ölüm nedeni olması beklenmektedir (2,3).

KOAH'lı olgularda; havayollarında daralma, elastik geri çekim kuvveti (elastic recoil) ve ekspiratuvar akım hızlarının azalması ilerleyici bir havayolu obstrüksiyona neden olurken, ekspirasyon sırasında akciğerlerin yeterli düzeyde boşalamaması “dinamik hiperinflasyon” ile sonuçlanmaktadır. Dinamik hiperinflasyon nedeniyle oluşan yüksek volümde soluma, diyafragmada aşağı itilme ve liflerde kısalma, dispne ve kas yorgunluğunun temel nedenidir. Tüm bunlar, solunum kasları üzerindeki mekanik yükü artırır (4).

İrritanların solunum yoluyla uzun süre alınması sonucu akciğerlerde gelişen kronik inflamasyon; büyük hava yolları, küçük hava yolları ve akciğer parankimini etkilemekte ve kronik bronşit, amfizem ve küçük hava yolu hastalığı gelişimine yol açmaktadır. KOAH'ta görülen yerleşik hava akımı obstrüksiyonu gelişiminde, küçük hava yolu hastalığı ve amfizem belirleyici öneme sahiptir. KOAH gelişimine genetik olarak duyarlı kişilerde, uygun çevresel risk faktörleri ile uzun süre karşılaşması hastalığın ortaya çıkmasına neden olmaktadır.

KOAH, gelişimi değişken bir hastalık olmakla birlikte, benzer risk faktörleri ile karşılaşan kişilerde hastalığın seyri de farklılık gösterebilmektedir (5).

2.1.2. Epidemiyoloji

KOAH tüm dünyada artan önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. KOAH sıklığı ve buna paralel ölümlerin artışındaki en önemli neden muhtemelen toplumdaki sigara içme oranı ve yaşlı nüfus oranındaki artıştır (6,7). Bununla birlikte hastalığın oluşturduğu ekonomik ve sosyal yük, oldukça önemli boyutlardadır. GOLD tarafından 2003 yılında KOAH'ın tanısı ve şiddeti konusunda önerilen spirometrik eşiğin yaygın kabul görmesi, KOAH'ın doğal seyrini daha iyi tanımlamaya yönelik büyük çalışmalar ve GOLD'un 70'den fazla ülkede KOAH'ın önemi konusunda bilinç oluşturma çabası bu konuda önemli değişiklikler sağlamıştır (8).

2.1.3. Prevalans

KOAH prevalansını değerlendirmede; kişilerin verdiği bilgiye dayalı doktor tanı KOAH prevalansı, anketlerle sorgulanan solunumsal semptomların prevalansı ve spirometri ile hava akımı kısıtlanmasının varlığına dayalı prevalans (bronkodilatör testi ile birlikte veya değil) gibi yaklaşımlar kullanılmaktadır. Tercih edilen yöntemeye bağlı olarak farklı prevalans değerleri bildirilmektedir. Doktor tanı prevalansında en düşük, anket sorgulu semptom prevalansında en yüksek, spirometriye dayalı prevalans ise ikisi arasında bir değer elde edilmektedir. GOLD rehberinin yayınlandığı 2003 yılından beri KOAH tanısında spirometriye gereksinim bulunduğu yaygın kabul görmüş ve günümüzde en azından epidemiyolojik çalışmalarda bu yaklaşım altın standart haline gelmiştir. Uluslararası rehberler, KOAH tanısı ve şiddetinin değerlendirilmesinde bronkodilatör sonrası spirometrik ölçümlerin kullanımını önermektedir.

KOAH prevalansını ve hastalığın sosyal ve ekonomik yükünü ölçmek amacıyla standart yöntemlerin kullanıldığı bu çalışmalarda; sabit oran ölçütü $FEV_1/FVC < \%70$ (FVC: forced vital capacity; FEV: forced expiratory volume) kullanıldığında KOAH prevalansının %20'ler düzeyinde olduğu, hastalığın yaş ve sigara içme yoğunluğu ile ilişkili olarak arttığı, gelişmiş ülkelerde sigara içme yaygınlığı ile ilişkili olarak erkek ve kadınlarda benzer prevalans değerlerinin elde edildiği, gelişmekte olan ülkelerde ise hastalığın erkeklerde daha yaygın olduğu gösterilmiştir (9).

2.1.4. Morbidite

Yapılan çalışmalar, KOAH hastalarının sadece % 25'inin bir sağlık kuruluşuna kayıtlı olduğunu göstermektedir. Küresel hastalık yükünü değerlendirmede ölçüt olarak önerilen DALY (Disability Adjusted Life Year = Sakatlığa Ayarlanmış Yaşam Yılı), sakatlık nedeniyle kaybedilen yıllar olarak tanımlanan YLD (Years Lost Due to Disability) ve erken ölümler nedeniyle kaybedilen yıllar YLL (Years of Life Lost)'ın toplamının ifade edildiği bir ölçüttür ve bu nüfustaki hastalık yükünü ifade eder. YLD ve DALY açısından KOAH önemli bir morbidite nedenidir. Hastalığın yaygınlaşmasına paralel önümüzdeki yıllar KOAH'a ikincil YLD ve DALY'nin artması beklenmektedir (10).

2.1.5. Mortalite

KOAH, tüm dünyada giderek artan bir mortalite nedenidir. Son 30-40 yılda KOAH'dan ölümler giderek artmaktadır (11). Ülkemizde Sağlık Bakanlığı Ulusal Hastalık Yüğü 2003 yılı verilerine göre, KOAH ölüm nedenleri arasında, iskemik kalp hastalıkları ve serebrovasküler olaydan sonra 3. sırada (%5.8) yer almaktadır (12). DSÖ verilerine göre 2000 yılında tüm dünyada yaklaşık 2.75 milyon kişi KOAH nedeniyle ölmüştür. 1965-1998 yılları arasında Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde erkeklerde koroner arter hastalığı, serebrovasküler hastalık, kardiovasküler hastalıklardan ölümler azalırken KOAH'tan ölümler %163 artmıştır (11,1).

KOAH genellikle yaşlıların ve sigara içenlerin hastalığı olarak algılanır. ABD'de ilk kez 2000 yılında KOAH'dan ölen kadın sayısı erkeklerin sayısını geçmiştir. Bu durum da sigara içme alışkanlığındaki artışa ve daha uzun yaşam sürelerine, dolayısıyla daha fazla KOAH gelişme riskine sahip olmalarına bağlanmaktadır (11,13).

2.1.6. KOAH'da Risk Faktörleri

KOAH gelişiminde rol oynadığı düşünülen risk faktörleri olarak şunlar sıralanabilir:

1. Genetik faktörler
2. Sigara
3. Çevresel ve mesleki maruziyet
4. İç ve dış ortam hava kirliliği
5. Akciğer gelişimine etkili faktörler
6. Hava yolu hiperreaktivitesi ve astım

2.1.6.1 Genetik Faktörler

KOAH gelişimine yol açtığı en iyi bilinen genetik faktör alfa-1 antitripsin eksikliğidir (14). Bir proteaz enzim inhibitörü olan alfa-1 antitripsin, enflamatuvar hücrelerden salınan yıkıcı enzimleri bloke ederek görev yapar. KOAH'ın yanı sıra siroz, bronşektazi ve cilt hastalıkları oluşumunda da rol oynayan alfa-1 antitripsin eksikliğinin genel popülasyonda ve KOAH'lı hastalarda görülme sıklığı, ırktan ırka ve bölgeden bölgeye değişiklik göstermektedir. Dünya nüfusunun 1/1000 ile 1/10000 arası sıklıkta genetik mutasyonlara sahip olduğu tahmin edilmektedir (15). Belirgin bir risk faktörü olmayan ve 40 yaş altında ortaya çıkan amfizem ağırlıklı KOAH olgularında mutlaka alfa-1 antitripsin eksikliği düşünülmelidir (16).

Alfa-1 antitripsin dışında; matriks metalloproteinler (MMPs), tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α), anti-oksidan enzimler (GST=glutasyon S-transferaz, SOD=süperoksit dismutaz, HEMOX =Heme oksijenaz 1, mHPEX= memeli hem peroksidaz) üzerinde etkili genler, transforming growth faktör-beta-1 (TGF- β 1) ve interlökin salınımını düzenleyici genler ile histon deasetilaz (HDAC) aktivitesini baskılayan genlerdeki bozukluklar ve özellikle 2, 12 ve 22 numaralı kromozom anomalilerinde KOAH gelişiminde etkili olabileceği düşünülmektedir (16-18). Bu tip genetik bozukluklar tek başına KOAH'a yol açamazlar. Bu kişilerde KOAH gelişebilmesi için ek olarak başta sigara dumanı olmak üzere çevresel ve mesleki maruziyet gibi risk faktörlerinin de olması gerekir.

2.1.6.2. Sigara

Sigara bilinen en önemli KOAH nedenidir. Genel anlamda sigara içenlerde KOAH gelişme riski %20 civarında olup, yaşla birlikte bu oranda belirgin artış görülür. 20 ve 30'lu yaşlardan sonra sağlıklı kişilerde, FEV1 değerlerinde yıllık 20-40 ml arasında bir düşüş meydana gelmesi beklenen bir durumdur (19). Sigara içen ve sigara dumanının zararlı etkilerine karşı duyarlı olan kişilerde ise bu düşüş daha hızlı olacağından, ilerleyen yaşla birlikte klinik olarak belirgin KOAH gelişmesi kaçınılmaz olacaktır. KOAH'lı hastaların bir çoğunda eşlik eden başka risk faktörleri de olmakla birlikte, olguların %70-80'inden ön planda sigaranın sorumlu olduğu düşünülmektedir (20,7,21,13).

KOAH gelişiminde; sigaraya başlama yaşı, sigara içme süresi ve günlük içilen sigara sayısı gibi faktörler önemlidir (22). Değişik sigara çeşitleri (nikotini düşük olan sigaralar, ince sigaralar vb.) ve tütün kullanma şeklinin (nargile, pipo vb.) hiçbirinin KOAH gelişme riskini

azaltmadığı bilinmektedir (23,24). Son yıllarda yapılan çalışmalarda kadın cinsiyetin sigara dumanına erkeklerden daha duyarlı olduğu bildirilmiştir (25,26).

KOAH gelişiminin önlenmesindeki en önemli hedef, sigara içme oranlarının düşürülmesidir. Ülkemizde tütün kontrol yasasından sonra genel tütün kullanımında görülen %2'lik azalma bu açıdan memnuniyet vericidir (27). Pasif olarak sigara dumanına maruziyetin de KOAH gelişme riskini, hiç sigara dumanına maruz kalmamış kişilere oranla belirgin olarak arttırdığı bilinmektedir. Haftada 40 saatten fazla ve 5 yıldan uzun süreli sigara dumanı maruziyetinin KOAH gelişme riskini %50 oranında arttırdığı saptanmış olduğundan, bireylerin aktif olarak sigara içmeseler dahi yoğun sigara dumanı maruziyetinden kaçınmaları önemlidir (28).

2.1.6.3. Çevresel ve Mesleki Maruziyet

Her türlü iş ortamında (fabrikalar, açık veya kapalı üretim tesisleri, çiftlikler gibi) akciğerlere zarar verebilecek çeşitli gaz ve tozlara inhalasyon yolu ile uzun süre maruz kalınması sonucu KOAH gelişebilir. İlk bakışta daha çok gelişmekte olan ve az gelişmiş ülkelerin sorunu gibi görünmekle birlikte, NHANES III (National Health and Nutrition Examination Survey) çalışmasının sonuçları ABD'deki KOAH olgularının %19.2'sinin iş ortamı kaynaklı olduğunu göstermiştir (13). Aynı çalışmanın verilerine göre mesleki maruziyet yaşam boyu hiç sigara içmemiş olanlarda görülen KOAH olgularının %31.1'inden sorumlu bulunmuştur.

2.1.6.4. İç ve Dış Ortam Hava Kirliliği

En önemli nedeni olan biomass (katı atık) maruziyetinin tanımı "ısınma veya yemek pişirmek maksadı ile her türlü organik artığın iyi şekilde izole edilmeden yakılması ve o sırada ortaya çıkan zararlı gaz ve partiküllere solunma yolu ile maruz kalınması" olarak yapılmaktadır. Dünya genelinde yaklaşık 3 milyar insanın ısınma ve yemek pişirme amacı ile değişen oranlarda biomass ürünlerini kullandığı tahmin edilmektedir (29).

Gelişmekte olan ve az gelişmiş ülkelerdeki toplam KOAH olgularının yaklaşık %20'sinden biomass maruziyetinin sorumlu olduğu gösterilmiş olup, ülkemizde yapılan çalışmaların verileri de benzer niteliktedir (30-32). Bu maruziyetin özellikle gelişmekte olan ve az gelişmiş ülkelerde, sigara içmeyen kadınlarda ortaya çıkan KOAH'tan büyük oranda sorumlu olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (33). Ayrıca ülkemizin bazı kırsal

kesimlerinde özellikle kadınlar arasında yoğun biomass maruziyetinin halen devam ettiğini gösteren yeni çalışmalar mevcuttur (21).

Dış ortam hava kirliliğinin KOAH dahil solunum ve kalp hastalıklarını alevlendirdiği ve kötü seyretmesine yol açtığı bilinmektedir. Bu durum özellikle çocuklarda akciğer gelişimini olumsuz yönde etkiler (34). Ayrıca solunum yolu enfeksiyonlarını artırarak ilerleyen yaşlarda KOAH gelişim riskini artırır.

2.1.6.5. Akciğer Gelişimine Etkili Faktörler

Akciğerlerin gelişimi anne karnında başladığından, akciğer gelişimi üzerinde etkili olabilecek her türlü faktörün anne karnından itibaren çocukluk çağlarına kadar irdelenmesi gerekir. Akciğerin gelişme sürecinde karşılaşılan tüm bu olumsuz faktörler aynı zamanda KOAH gelişimine de yol açabilir. Sigara içen annelerde düşük doğum ağırlığı ve erken doğum daha sık görülmektedir. Düşük solunum fonksiyonlarına sahip bireylerde KOAH gelişimi riskinin arttığı da gösterilmiştir (35). Ayrıca geçmişinde akciğer tüberkülozu öyküsü olan bireylerde KOAH'ın 2-4 kat daha sık ortaya çıktığı yönünde bulgular mevcuttur (20).

2.1.6.6. Hava Yolu Hiperreaktivitesi ve Astım

Çocukluk çağlarından başlayarak bronş aşırı duyarlılığı öyküsü olan veya astım nedeni ile tedavi görenlerde KOAH riskinin de artmış olduğu yönünde görüşler vardır. (36) Son yıllarda yapılan geniş tabanlı ve prospektif epidemiyolojik çalışmaların verilerine göre, yukarıda sayılan risk faktörleri bulunanlarda, bulunmayanlara göre KOAH riski 12.5 kat artmaktadır (37).

2.1.7. Patoloji

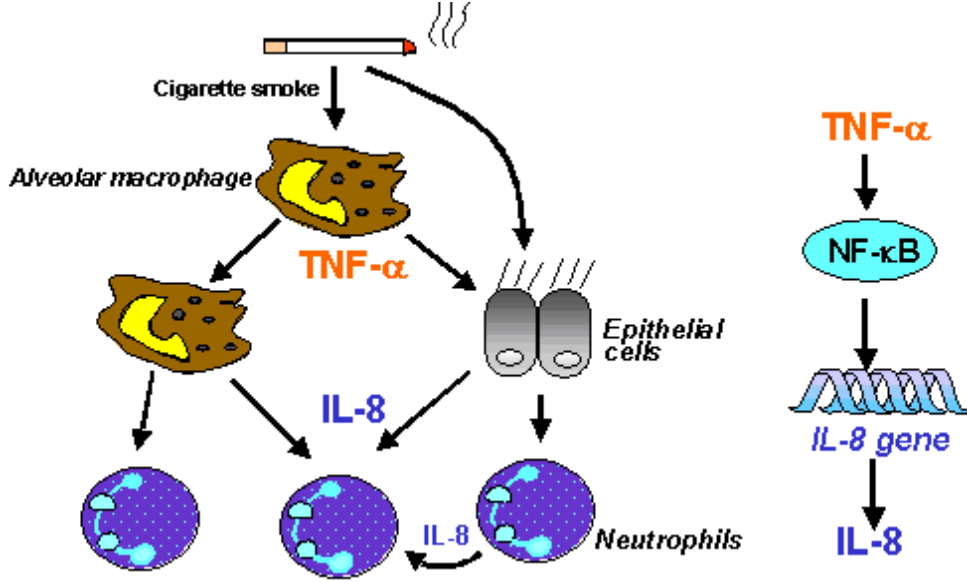
KOAH'a özgü patolojik değişiklikler büyük hava yolları, periferik hava yolları, akciğer parankimi ve akciğer damar yatağında izlenir. Bu patolojik değişiklikler; inflamatuvar hücre infiltrasyonunun neden olduğu kronik inflamasyonla birlikte tekrarlayan hasar ve tamir mekanizmalarının yol açtığı yapısal değişiklikleri içerir. KOAH patolojisinde gözlenen değişiklikler Tablo 1'de özetlenmiştir.

Tablo-1. KOAH patolojisinde gözlenen değişiklikler.

	İltihabi hücreler	Yapısal değişiklikler
Büyük havayolları (trakea, bronş ve çapı >2 mm hava yolları)	Makrofaj CD8 T lenfosit Az sayıda polimorf nüveli lökosit(PMNL) Eosinofil	Goblet hücre hiperplazisi Mukus glandlarında artış Skvamöz metaplazi
Periferik havayolları (çapı<2mm havayolları)	Makrofaj T lenfosit CD8 >CD4 B Lenfosit Fibroblast Az sayıda PMNL Eosinofil	Bronş duvarlarında kalınlaşma Peribronşiyoler fibrozis İntraluminal inflamatuvar eksuda Havayollarında daralma (obliteratif bronşiolit)
Akciğer parankimi	Makrofaj CD8 T lenfosit	Alveol duvar hasarı Alveol epitelinde apoptoz Sentrilobüler amfizem Panasiner amfizem
Vasküler yapı	Makrofaj Lenfosit	İntimal kalınlaşma Endotel disfonksiyonu Düz kas hiperplazisi

2.1.8. Patogenez

İnflamasyona katılan değişik hücreler (makrofajlar, T lenfositler, özellikle de sitotoksik T lenfositler (CD8+), nötrofiller) ve bu hücrelerden salınan değişik mediyatörler (proteazlar, oksidanlar ve toksit peptidler) akciğerlerde hasar gelişimine neden olmaktadır.



Şekil.1. Makrofajlar, Nötrofiller ve Epitelyal Hücreler Arasındaki Etkileşim (38) .

Başta sigara olmak üzere, zararlı toz ve partiküllerin inhalasyonu, hava yolu epitel hücrelerini ve makrofajları uyarmaktadır. Aktive makrofajlar epitelooid hücreler ve CD8(+) T lenfositlerden hava yollarına nötrofil kemotaksik faktörler salınmasına yol açmaktadır (39).

KOAH her ikisi de aşırı inflamasyona dayanan iki temel olayın sonucunda gelişir; biri havayollarını etkiler, fibrozis ve daralmayla sonuçlanır, diğeri parankimi etkiler ve amfizemle sonuçlanır. Amfizem akciğerin elastik ve kollagen yatağının enzimatik yıkımı sonucunda oluşur. Buradaki en önemli enzimin polimorfonükleer lökosit kaynaklı elastaz olmasına rağmen matris metaloproteinazları (MMP'ler) ve diğere proteolitik enzimlerin de rol aldığına dair kanıtlar giderek artmaktadır (40-42). Örneğin elastaz ve kollejenaz aktivitesi olan pek çok MMP içeren alveolar ve interstisyel makrofajlar sigara içenlerde belirgin olarak artmıştır. Ayrıca MMP-12 geni kaldırılan farelerde sigara dumanına maruziyet sonrasında amfizem gelişmemektedir (43,44). Akciğerler normalde proteazların yaptığı aşırı elastolitik hasara karşı antiproteazlarla korunur. Amfizem proteazlar ve bunlara karşı korunma sağlayan antiproteazlar arasındaki dengesizlik sonucu oluşur (43,45).

Sigara dumanı, harap olmuş elastin ve kollagenin tamirinde rol alan bir enzim olan liziloksidaz düzeyini düşürür; kan ve pulmoner nötrofillerin, alveolar makrofajların sayısını, nötrofillerden elastaz salınımını, vasküler yataktan akciğer intertisyumuna nötrofil kemotaksisini artırır. Sigara içenlerin periferik nötrofillerinde miyeloperoksidaz ve nötrofil elastaz normalden yüksektir (43).

KOAH patogeneğinde oksidan-antioksidan dengesizliği de önemli bir mekanizmadır. KOAH'a neden olan oksidan kaynakları sigara içimi, inflamasyon ve enfeksiyonlardır (46,47). İnflamasyonda rol alan nötrofiller, alveolar makrofajlar, eozinofiller, ksantin oksidaz, artmış lenfositler, epitelyum hücreleri ve mast hücreleri, KOAH'lı hastaların akciğerlerinde oksidan-antioksidan balansını değiştirebilen oksijen radikalleri salgırlar (48-50). İnfeksiyonlar ise KOAH'lı hastalarda fagositik hücreleri aktive ederek oksidan hasara yardımcı olurlar (51-53).

Sonuç olarak; oksidanlar, proteinazlar, inflamatuvar hücre ve mediatörlerle tetikleyici risk faktörlerinin etkileşimi ve bu etkilere karşı koruyucu tamir mekanizmalarının yetersizliği, antiproteaz ve antioksidan sistemlerin yine pek çok risk faktörü nedeni ile yeterli olamaması KOAH gelişimine yol açar (54).

2.1.9. Fizyopatoloji

KOAH'a özgü fizyopatolojik değişiklikler aşırı mukus sekresyonu, siliyer disfonksiyon, hava akımı kısıtlanması, pulmoner hiperinflasyon, gaz alış verişinde bozulma, pulmoner hipertansiyon, korpulmonale ve sistemik etkilerdir (55-58).

KOAH'ı fizyopatolojik olarak tanımlamak istersek (59) ;

1. KOAH; daha çok periferik solunum yollarında daralma, solunum yolu açıklığının korunmasında azalma ve elastik gerilme gücünde azalmadan kaynaklanan ekspiratuvar itici basınçta azalma,
2. Ventilasyon ve kan akımının dengesiz dağılımının sebep olduğu arteriyel hipoksi ve ilerlemiş KOAH olgularında oluşan hiperkapni,
3. Solunum mekaniğindeki değişimlere ilave olarak çizgili kas performansındaki azalmalara bağlı olarak egzersiz performansında azalma,

4. Ekspirasyonda solunum yollarının aşırı daralması ve erken kapanma nedeniyle aşırı havalanma artışı,

(Aşırı havalanma ekspirasyon sonu intrinsik pozitif basıncın (iPEEP) artmasına ve inspiratuar solunum kasları üzerinde aşırı yük oluşmasına sebep olur. Bunun sonucunda, inspiratuar solunum kas yorgunluğu ve kas gücünde azalma meydana gelir.)

5. Total akciğer kapasitesi, statik kompliyansın elastik gerilme gücü ve difüzyonda azalma ile karakterize kronik sistemik inflamatuar bir hastalıktır. Hava yolu rezistansında artma ve elastik gerilme gücünde azalmadan kaynaklanan ekspiratuar itici basınçta azalmaya bağlı ekspiratuar hava akımı kısıtlaması ile karakterizedir (4).

2.1.10. KOAH'da Sistemik Etkiler

KOAH sıklıkla orta ve ileri yaş grubunda ortaya çıkan, birçok hastalığın eşlik ettiği sistemik etkileri olan bir hastalıktır. Komorbidite, KOAH'la doğrudan ilişkili olsun veya olmasın, birlikte bulunan bir veya daha fazla hastalığı tanımlamaktadır. Komorbid hastalıklar, KOAH'ın şiddetini ve prognozunu olumsuz yönde etkiler. Komorbiditelerin hastaneye yatış sıklığını, sağlık harcamalarını ve mortaliteyi artırdığı bilinmektedir (4,60-62). KOAH'da sistemik etkilenim tablo-III'de belirtilmiştir.

Tablo-II. KOAH'da Sistemik Etkilenim

Sistemik İnflamasyon	-Oksidatif stres -Aktive olmuş inflamatuar hücreler -Sitokin ve akut faz proteinlerinin plazma düzeylerinde artış
Nütrisyonel Anormallikler	- İstirahat enerji harcamasında artış - Anormal vücut kompozisyonu - Anormal amino asit metabolizması
İskeletkas disfonksiyonu	- İskelet kas kaybı - Anormal yapı/ fonksiyon - Egzersiz kısıtlaması
Diğer potansiyel sistemik etkileri	- Kardiyovasküler sistem üzerine etkileri - Sinir sistemi üzerine etkileri - İskelet sistemi üzerine etkileri

Tüm dünyada 65 yaş üzeri bireylerin %25'inde, KOAH'ın da aralarında olduğu sık görülen kronik hastalıklardan en az iki tanesinin, %10'unda ise üç veya daha fazlasının bulunduğu bilinmektedir (63).

2.1.10.1. Sistemik Enflamasyon ve Komorbiditeler

Kronik enflamasyondan; interlökin-6 (IL-6), interlökin-8 (IL-8), tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α), transforming growth faktör-beta (TGF- β) ve interlökin-1 beta (IL-1 β) sorumlu tutulmaktadır. Özellikle ekspirasyon havasında ve kanda bu belirteçlerin ölçümü, uzun süreli salınımlarının olduğunun saptanması, KOAH'ın sistemik bir hastalık olduğunun göstergesi olarak düşünülmektedir. IL-6'nın iskelet kas fonksiyon bozukluğu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (64). TNF- α enflamatuvar süreçte; lökosit ve epitel hücrelerinde adezyon moleküllerinin ekspresyonunda, diğer pro-enflamatuvar sitokinlerin aktivasyonunda ve anjiogenezde rol oynar. TNF- α 'nın KOAH'daki kas erimesi ve kaşeksiden sorumlu temel faktör olduğu bilinmektedir (65). KOAH'daki alveoler hipoventilasyon ve ventilasyon/perfüzyon dengesizliği sonucu oluşan hipoksinin de, sitokinlerin salınımına yol açarak enflamasyon sürecinde etkili olduğu düşünülmektedir (66).

Sistemik enflamasyonun göstergesi olarak ayrıca dolaşımda C-Reaktif Protein (CRP), fibrinojen, serum Amiloid-A, Surfaktan Protein D artışı gösterilmiştir. Stabil KOAH'lı olgularda plazma CRP yüksekliğinin; mortalite, yaşam kalitesi ve egzersiz kapasitesi ile ilişkili olduğu vurgulanmaktadır. Ayrıca fibrinojenin, alevlenme şiddetini belirlemede belirteç olarak kullanılabilmesi de bildirilmiştir (67-69).

2.1.10.2. İskelet Kas Güçsüzlüğü

Kas kuvveti ve dayanıklılığının kaybı; çabuk yorulma, yaşam kalitesi ve egzersiz kapasitesinde azalma ile sonuçlanır. Kas güçsüzlüğünün, morbidite ve mortalite ile yakından ilişkili olduğu vurgulanmaktadır (70). Kas dayanıklılığı ve kas yorgunluğunun fonksiyonel değerlendirilmesi amacıyla egzersiz sırasında Borg ve Görsel Analog Skalası tercih edilir (71).

2.1.10.3. Vücut Kompozisyon Anormalliklerinin Tedavisi

Beslenme bozukluğu olan KOAH'lı olgularda, protein yıkım hızı normal olmasına rağmen kas protein sentezi azalmış olabilir. Bu nedenle, protein sentezinin tetiklenmesi amacı

ile anabolik steroidler, kreatin ve büyüme hormonu replasman tedavileri denenmiş ve yararlar bildirilmiştir. Ancak rutin tedavide önerilmemektedir (72).

2.1.10.4. KOAH ve Kardiyovasküler Hastalıklar

KOAH'da koroner arter hastalığı, inme ve ani ölüm riski artmıştır. Koroner arter hastalığında da KOAH'daki gibi sigara içimi, sedanter yaşam ve ileri yaş gibi ortak risk faktörleri vardır (73). FEV1'deki her %10'luk azalma; tüm nedenlere bağlı mortaliteyi %14, kardiyovasküler mortaliteyi %28 ve fatal olmayan koroner patolojileri %20 oranında arttırmıştır(74). Hastalık evresi arttıkça, enflamasyon yoğunluğu artmakta ve kardiyovasküler patolojilerin de gelişimi hızlanmaktadır (75).

KOAH'da sigara içimi sonucu ortaya çıkan endotelial hasar, hipoksik vazokonstriksiyon, sistemik enflamasyona bağlı vasküler yeniden yapılanma, pulmoner arteriyel hipertansiyon gelişimine neden olur. KOAH'a bağlı pulmoner hipertansiyonda; kardiyak atımda artış olsun ya da olmasın pulmoner arter basıncındaki hafif düşüşler dahi gaz değişiminde bozulmaya neden olduğundan ve uzun dönemde klinik yarar sağlamadığından, sistemik ve selektif vazodilatatörler önerilmemektedir (76).

2.1.10.5. Metabolik Sendrom ve Diabetes Mellitus

KOAH'daki sistemik enflamasyon sonucu açığa çıkan proenflamatuvar sitokinler, insülin reseptörlerini bloke ederek insülin direncinin ortaya çıkmasına neden olur. KOAH'lı olgularda diabetes mellitus ve kardiyovasküler sistem hastalığının birlikteliği, metabolik sendrom sıklığını yansıtmaktadır. Hafif KOAH'da bile, diabetes mellitusun yaklaşık 1.5 kat arttığı bildirilmektedir (77).

2.1.10.6. Osteoporoz

KOAH'lı olgularda osteoporoz prevalansının yüksek olduğu bildirilmiştir (78). Kas erimesi ve osteoporoz gelişiminde, azalmış anabolik hormonların etkili olduğu düşünülmektedir (79).

2.1.10.7. Akciğer Kanseri

Akciğer kanser gelişimi, KOAH'daki artmış enflamasyon ve oksidatif stres ile ilişkili bulunmuştur. Sigara dumanı maruziyeti sonrası salınan interlökin ve diğer sitokinler

anjiogenezisi uyarabilmektedir. KOAH'lı olgular sigarayı bıraksalar bile akciğer kanserine yönelik risk azalmakla birlikte devam etmektedir (80,81).

2.1.10.8. Anemi

Özellikle ciddi hastalığı olan olgularda, %15-30'a varan düzeylerde yüksek anemi prevalansı saptanırken, polisiteminin %6 civarında olduğu bildirilmektedir (82).

2.1.10.9. Obstrüktif Uyku Apne Sendromu (OSAS)

KOAH ile OSAS birlikteliği (overlap sendrom) en sık görülen patolojidir. KOAH ve uyku bozukluklarında görülen noktürnal oksijen desatürasyonu, zamanla pulmoner hipertansiyon gelişimine neden olur.

2.1.10.10. Depresyon

Fiziksel kısıtlanmaya bağlı olarak, KOAH'lı olgular çoğu zaman sosyal yaşamdan izole olarak yaşamak durumunda kalırlar. KOAH'lı olgularda %10-80 oranında depresif semptomlar saptanmaktadır (83).

2.1.11. Klinik Değerlendirme

Hastalık seyirinin kronik olmasından dolayı ciddi hipoksemisi olan KOAH'lı hastalarda bile nefes darlığı semptomu da dahil olmak üzere semptomları algılamada gerçek anlamda küntleşmeler olabilir (84).

2.1.11.1. Semptomlar

KOAH'lı hastaların ilk başlayan ve en yoğun şikayet ettikleri semptom genellikle öksürüktür (84,85). Öksürük refleksine yol açan değişikliklerin başında terminal bronşiolle kadar uzanan mukus bezlerinin KOAH'da sayıca artış göstermeleri ve hipertrofiye uğramaları sonucu aşırı mukus salgılanması bulunur. Balgam çıkarma da öksürük gibi KOAH hastalığı başlamadan yıllar önce ortaya çıkar. Amfizemden ziyade kronik bronşit komponentinin ön planda olduğu KOAH'lılarda belirgindir (84). Normal bireylerde 24 saatte 100 ml kadar balgam oluşur ancak bu balgam farkına varmadan yutulur. Bu nedenle hastanın farkına vardığı balgam patolojik olarak kabul edilir (86). Mukus hipersekresyonunun solunum fonksiyonlarındaki düşüşün hızında, hastaneye yatış ve ölüme olduğu kadar belirleyici olduğu görülmüştür (87).

Dispne KOAH'ın dominant semptomudur (88). Solunum yolu darlığı ile başlayan mekanik değişimler sonucu kişide oksijen ihtiyacı artar. Ventilasyon gereksiniminin arttığı tabloda, önce egzersiz kısıtlaması ile kendini gösteren hipoksemik daha sonra ise hipoksemik ve hiperkapnik dispne ortaya çıkar (89). Dispne hissi zamanla hastanın hareket yapma cesaretini azaltarak, aktiviteden korkmasına ve kaçmasına neden olur. KOAH'da dispne, egzersizi kısıtlayan semptom olarak tanımlanır. Dispnenin şiddeti ile FEV₁ arasında bir korelasyon vardır (90). FEV₁ değeri 1.5-2 litre arasında olan bireylerde paket taşıma ve merdiven çıkma gibi aktiviteleri yaparken dispne görülür. FEV₁ 1 litre civarındayken hastalar yemek pişirme, banyo, temizlik, giyinme ve yürüme gibi günlük yaşam aktivitelerini yapabilirken; FEV₁ değeri 0.75 litreye gerilediğinde istirahat durumundayken bile dispne yaşanır (91).

KOAH'da genel nefes darlığı ölçümünde MMRC skalası (Modified Medical Research Council Dyspnea Scale), egzersizde oluşan nefes darlığı ölçümünde Borg skalaları ve tedaviye yanıtı değerlendirmede ise Transitional Dispne İndeksi en sık olarak kullanılanlardır (92). Dispneye genellikle hışıltı (wheezing) eşlik eder. Solunum yolu infeksiyonları ile semptomların alevlenmesi tipiktir (93). Dispne tek semptom ise amfizem komponenti ön plandadır. Dispne derecesinde ani artışlar ataklara bağlı olabilir. Pulmoner emboli veya pnömotoraks da dispneyi artırabilir (93).

Zaman zaman KOAH hastalarında hemoptizi ve göğüs ağrısı şikayeti olabilir. Hemoptizi genellikle inflamasyonlu hava yollarından kaynaklanır. Hemoptizi ortaya çıktığında ayırıcı tanıda bronşektazi, malignite, pnömoni veya kalp yetmezliği düşünülmelidir. Göğüs ağrısı, genellikle hastalığın kendisine bağlı olmayıp pnömotoraks veya pulmoner emboli gibi komplikasyonlar sonucu ortaya çıkar (86).

Hastalık ilerleyip hipoksemi geliştiğinde semptomlara siyanoz da eklenir. Hastalığın ileri döneminde anoreksi, iştahsızlık ve kilo kaybı gelişir. Kilo kaybı metabolizma artışı, hipoksemi, inflamasyonun sistemik etkileri veya yetersiz kalori alımına bağlı olabilir. Kilo kaybı kötü prognoz göstergesidir (86).

Özellikle yaşlı ve kadın hastalarda anksiyete ve depresyon oldukça sıktır. Hipoksemi hafıza kaybı ve dikkat azalmasına neden olabilir. Hiperkarbi ise kognitif bozukluklar oluşturur (94).

2.1.11.2. Klinik Bulgular

KOAH hastalığının erken evreleri ve istirahat solunumunda anormal bulguya rastlanmayabilir. Hastalık ilerledikçe; solunum seslerinde azalma, ekspiryumda uzama, sibilan ronküsler duyulur (84). Ciddi atak durumlarında sessiz akciğer, enfeksiyon durumlarında özellikle inspiyumun erken döneminde duyulan yaygın ral ile ronflan ronküsler KOAH'lı hastalarda duyulabilen diğer patolojik seslerdir (45,84).

Kalp sesleri tamamen normal olabileceği gibi korpulmonale sağ kalp yetmezliği kliniğinin geliştiği hastalarda taşikardi, aritmiler, 2. kalp sesinin pulmoner komponentinin sertleşerek aortik komponentten ayrışması, ileri durumlarda triküspit yetmezliğine ait bulgular saptanabilir (84). Kronik korpulmonale sıklıkla kardiyak aritmilerle özellikle de supraventriküler aritmiyle birlikte (43,95). Hava yolu obstrüksiyonu ağırlaştıkça sağ aks deviasyon bulguları gelişir. Bu değişiklikler en çok total pulmoner vasküler rezistans ile korelasyon gösterir (43). KOAH hastalarının atak dönemlerinde değişen şiddetlerde ödem bulguları olabilir (84). Polisitemisi olan stabil hastalarda sıklıkla siyanoz gelişirken, anemisi olan hastalarda ciddi KOAH bulguları olmasına rağmen siyanoz gelişmez (84).

KOAH ileri evrelerde ve ataklarda takipne, yüzeysel solunum, öne eğilerek solunum yapma, büyük dudak solunumu (balık ağzı solunumu), omuz ekleminin yüksekte tutulup fikse edilerek yardımcı solunum kaslarının kullanılması, paradoksal solunum gibi anormal solunum şekilleri görülebilir (45).

2.1.12. Tanısal Yaklaşım

2.1.12.1. Solunum Fonksiyon Testleri

Spirometri, rehberlerin ışığında KOAH tanısı ve ağırlığının değerlendirilmesinde bugün için temel kabul edilmektedir. KOAH hastalarında tipik olarak hem maksimum inspirasyon noktasında zorlu bir ekspirasyonla çıkarılan hava hacmi (FVC), hem de bu manevranın ilk saniyesinde çıkarılan hava hacmi (FEV₁) azalmıştır. Hava akımı kısıtlamasının varlığı bronkodilatör sonrası FEV₁ / FVC <0.70 şeklinde tanımlanır (96).

FEV₁'in azalması hava yollarının obstrüksiyonunun tipik bulgusudur, ancak genellikle büyük hava yollarındaki değişimleri yansıtmaması nedeniyle KOAH'ın erken dönemlerinde hassas olmayabilir. Bu nedenle erken dönemde KOAH'ın değerlendirilmesinde FEV₁/FVC oranının daha duyarlı bir indeks olduğu kabul edilmektedir. Orta-ileri derecedeki KOAH'da

ise FEV₁ değeri hava akımındaki kısıtlanmayı daha iyi yansıtmaktadır. Dolayısıyla GOLD, KOAH'da hava yolu obstrüksiyonunun şiddetinin ve hastalığın evresinin belirlenmesinde FEV₁'in mutlak değeri ve FEV₁/FVC oranını birlikte değerlendirme zorunluluğunu getirmiştir (97). Epidemiyolojik çalışmalarda, KOAH tanısı için genç yaş gruplarında FEV₁/FVC < %70 sabit oranı yerine, FEV₁/FVC oranlarının beklenene göre değerlendirilmesi tanısız duyarlılığın artırılmasında önemli olabilir (98).

Ekspirasyonun başındaki hava akımını belirleyen asıl güçler; ekspirasyon kaslarının kasılması, intratorasik havayollarının çapı ve solunum merkezidir. Zorlu vitalkapasite (FVC) manevrası sırasında elde edilen akım volüm halkasında eğrinin ikinci bölümünü belirleyen ise hava yollarındaki direnç ve akciğer elastik liflerinin geri dönüş gücüdür. Eğrinin bu kısmı bize daha çok küçük hava yolları hakkında fikir vermektedir. Obstrüktif akciğer hastalıklarında ilk bulgular eğrinin ikinci bölümünde hava akım hızlarındaki azalmaya bağlı olarak içe doğru bombeleşmedir. Amfizemli olgularda ise başlangıçtaki doruktan sonra elastik liflerdeki kayıptan dolayı akım hızlarında ani bir düşme (kollaps tipi eğri) meydana gelir.

GOLD; 400 mcg salbutamol veya 1000 mcg terbutalin, 160 mcg ipratropiyum bromür ya da ikisinin kombinasyonunun inhalasyonu sonrası FEV₁'de prebronkodilatör FEV₁'e göre 200 ml mutlak ve beklenen değere göre %12'den fazla artış olmasını reverzibilite pozitif kabul ederken (99,11,100), FEV₁'deki artışın 400 ml ve daha fazla olması astım lehine yorumlanır (1,11). Akciğer volümlerindeki ilk değişiklik RV (Rezidüel Volüm)'deki artıştır. Akciğer tabanlarında hava yollarının erken kapanması ile ilişkilidir. RV daha da arttıkça FRC (Fonksiyonel Residüel Capacity), TLC (Total Lung Capacity) ve RV/TLC oranı artar, VC (Vital Capacity) azalır (43).

Amfizemli olgularda alveolokapiller membranda parçalanma sonucunda difüzyon yapılan total alanın azalması, alveolokapiller membrana komşu kapillerlerde parçalanma sonucunda vasküler yatak kaybı, doku harabiyeti sonucu oluşan büyük hava keseciklerinde oksijen molekülünün alveol epiteline kadar katettiği mesafede genişleme ve V/Q (Ventilasyon Perfüzyon) oranında bozulmaya bağlı olarak DLCO (Akciğer Karbonmonoksit Diffüzyon Kapasitesi) azalır. DLCO ile birlikte difüzyon kapasitesinin alveolar volüme (VA) oranı olan transfer katsayısının (DLCO/VA) azalması, amfizem için tipik bir bulgudur (97).

Maksimal inspiratuar basınç (MİP, P_{Imax}) kapalı hava yoluna karşı inspirasyon yapılırken elde edilen en yüksek subatmosferik basınçtır. Diyafragma, interkostal ve aksesuar

solunum kaslarının fonksiyonlarını yansıtır. KOAH'lı hastalarda pulmoner hiperinflasyon sonucu inspiratuar kasların aşırı yüke karşı çalışarak kısalması, yorulması sonucunda belirgin düşme gösterir. Maksimal ekspiratuar basınç (MEP, PEmax) ise kapalı havayoluna karşı yapılan zorlu ekspirasyon sırasında elde edilen en yüksek basınçtır. Ekspiratuar kasların fonksiyonlarının yanı sıra, akciğer ve toraksın elastik "recoil" özelliklerini yansıtır. Maksimum ekspiratuar basınçlar genellikle hastalığın ileri evrelerine kadar normaldir (97).

Hastaları SFT değerlerine göre evrelendirmek hastalığın izlenmesi ve tedavisinin düzenlenmesinde önemlidir. Hastaların evrelendirilmesi epidemiyolojik, klinik çalışmalar ve sağlık harcamalarının planlanmasında da önemlidir.

2.1.12.2. Arter Kan Gazları

KOAH'da hastalık ne kadar şiddetli ise hipoksemi ve hiperkapni de o kadar belirgindir (101). Arteriyel hipoksemi, alveolar hipoventilasyon ve ventilasyon-perfüzyon uygunsuzluğuna bağlıdır. V/Q dengesizliği, oksijen alınımı ve karbondioksit atılımının her ikisini de bozmasına rağmen beklenen PaCO₂ (Parsiyel Karbondioksit Basıncı) artışı iyi perfüze olan birimlerde alveolar ventilasyonun artması ile önlenir, ancak ventilasyon artışı hipoksemiye, O₂ disosiyasyon eğrisinin nonlineer şekli nedeniyle düzeltemez, hafif veya orta şiddette KOAH'da hiperkapni olmadan hipoksemi gözlenir. KOAH daha şiddetlendiği zaman total alveol ventilasyonunun azalması sonucunda CO₂ retansiyonu meydana gelir. FEV₁ yaklaşık 1.2 litreden az olmadıkça arteriyel PaCO₂'de artış görülmez ve FEV₁'i 1.5 litreden fazla olan bir hastada hiperkapninin varlığı santral hipoventilasyon veya OSAS olasılığını düşündürmelidir. KOAH'daki hipoksemi inspire edilen O₂ konsantrasyonunu artırarak kolaylıkla düzeltilebilir ancak bu artış özellikle akut ventilatuar solunum yetmezliği atakları sırasında arteriyel PaCO₂'de de değişken bir artışa neden olabilir (43).

2.1.12.3. Radyolojik Bulgular

Kronik bronşitli hastalarda izlenen temel radyolojik bulgular; bronş duvarı kalınlaşmaları ve bronkovasküler dallanma artışıdır (102,103). Hastaların yaklaşık %21-50'sinde göğüs radyografisi normaldir. Amfizemde ise radyolojik bulgular; akciğer parankim harabiyetini, parankim harabiyetine sekonder gelişen vasküler değişiklikleri ve akciğerlerde volüm artışını yansıtır. Göğüs radyografilerinde tek ya da çok sayıda büller, parankim kaybına bağlı saydamlık artışı izlenebilir. Ancak olguların çoğunda hiperinflasyon ve pulmoner vasküler yapıdaki değişiklikler temel radyolojik bulguları oluşturur (104,105).

Hiperinflasyonun en güvenilir işareti diyafram kubbelerinin düzleşmesidir (43,106). Ayrıca retrosternal hava alanında artış, akciğer yüksekliğinde artış ve diyaframın aşağı pozisyonudur.

KOAH hastalarının rutin değerlendirilmesinde toraks BT (Bilgisayarlı Tomografi)'si önerilmemektedir. Ancak KOAH tanısında kuşku varsa, YÇBT (Yüksek Çözünürlüklü Bilgisayarlı Tomografi) ayırıcı tanıda yardımcı olabilir. Ayrıca büllektomi ya da volüm azaltıcı cerrahi düşünülüyorsa ve KOAH ile birlikte bulunabilecek bronşektazi, tromboemboli veya akciğer kanseri kuşkusunun araştırılmasında BT yararlıdır (96,102).

2.1.13. Tanı

KOAH'ın en önemli semptomları öksürük, balgam çıkarma ve efor dispnesidir. Dispne, kronik öksürük ve/veya balgam çıkarma yakınması olan ya da hastalıkla ilgili risk faktörlerine (tütün dumanı, biomass yakıt kullanımı, mesleki toz ve kimyasallar) maruziyeti olan hastalarda KOAH akla gelmelidir ve tanı spirometre ile doğrulanmalıdır. Dispne, genellikle egzersizde artar, ilerleyicidir ve her gün vardır. Dispneye çoğunlukla öksürük eşlik eder. Hastaların %75'inde öksürük dispneden önce ortaya çıkar ya da dispne ile birlikte başlar; balgamlı veya balgamsız olabilir, sabahları daha belirgindir. Öksürüğe eşlik eden diğer önemli bir semptom ise balgamdır. Stabil dönemdeki hastalarda balgam mukoid olup, beyaz renktedir. Genellikle akciğer fonksiyonları bozulana kadar hava akım kısıtlamasının fiziksel belirtileri yoktur, saptanmasının duyarlılığı ve özgüllüğü düşüktür (5).

KOAH tanısı koymada spirometrik tetkik çok önemlidir. Hava yolu obstrüksiyonunun varlığı spirometrik olarak gösterilmelidir. Spirometride maksimum inspirasyon noktasında zorlu bir nefes vermeyle çıkarılan hava miktarı (FVC) ve bu manevranın ilk saniyesinde çıkarılan hava miktarı (FEV1) ölçülmeli ve bu iki ölçümün oranı (FEV1/FVC) hesaplanmalıdır. Spirometri ölçümleri yaş, boy, cinsiyet ve ırka uygun referans değerleriyle karşılaştırılmalıdır (5). Tipik KOAH'lı hastalarda hem FEV1, hem de FVC azalmıştır. Hava akım kısıtlaması varlığı bronkodilatör sonrası FEV1/FVC <0,70 şeklinde tanımlanır. Yaşlılarda olduğundan fazla KOAH tanısı konulmasını önlemek için yaş ile normal değerler mutlak suretle karşılaştırmalı olarak değerlendirilmelidir (5).

KOAH'da akciğer grafisi tanı koydurucu değildir ancak alternatif tanıların dışlanması ve kalp yetmezliği gibi ek hastalıkların tanınması ile büyük cerrahi müdahale gerektirecek büllelerin saptanması açısından akciğer grafisi oldukça faydalıdır. KOAH ile ilgili olarak aşırı havalanma, pulmoner hipertansiyon ve korpulmonale bulguları gözlenebilir (5).

2.1.14. KOAH Ayırıcı Tanısı

KOAH ile ayırıcı tanısı yapılması gereken hastalıklar; astım, kronik kalp yetmezliği, tüberküloz, bronşektazi, bronş karsinomu, kistik fibrozis, obliteratif bronşiyolit, diffüz panbronşiyolittir (1). Ayırıcı tanıda dikkat edilecek hususlar tablo-III'te KOAH'da spirometrik evreleme tablo-IV de gösterilmiştir.

Tablo-III. KOAH Ayırıcı Tanısı

Tanı	Özellikler
KOAH	Başlangıç orta yaşlarda Yavaş ilerleyen semptomlar Uzun süre sigara içme öyküsü Egzersiz sırasında dispne Büyük ölçüde irreversible hava akımı kısıtlaması
Astım	Başlangıç erken yaşlarda Gece veya günün ilk saatlerinde semptomlar Alerji, rinit ve/veya ekzema varlığı Aile hikâyesi varlığı Çoğunlukla reverzibl hava akımı kısıtlaması
Konjestif kalp yetmezliği	Oskültasyonda bazalarda ince raller Akciğer grafisinde genişlemiş kalp Pulmoner ödem Solunum fonksiyon testlerinde restriksiyon
Bronşektazi	Büyük miktarda pürülan balgam Çoğunlukla bakteriyel enfeksiyonla birliktelik Oskültasyonda kaba raller Akciğer grafisi ve/veya BT'de bronşiyal dilatasyon ve bronşiyal duvar kalınlaşması
Tüberküloz	Tüm yaşlarda başlayabilme Göğüs radyografisinde akciğerde infiltrasyon Mikrobiyolojik doğrulama Prevalansı yüksek bölgelerde bulunma
Obliteratif Bronşiyolit	Genç yaşlarda ve sigara içmeyenlerde başlangıç Romatoit artrit ve/veya duman maruziyet öyküsü Ekspirasyon Tomografisinde hipodens alanlar
Diffüz panbronşiyolit	Çoğunlukla sigara içmeyen erkeklerde etkilenme Hemen daima kronik sinüzit birlikteliği Akciğer grafisi ve BT'de yaygın küçük sentrlobüler nodüller opasiteler ve hiperinflasyon

Tablo-IV. KOAH'ta Spirometrik Sınıflandırma

Evre	Özellikler
I. Hafif KOAH	FEV1/FVC < %70 FEV1 ≥ %80 (beklenenin)
II.Orta KOAH	FEV1/FVC < %70 %50 ≤ FEV1 < %80 (beklenenin)
III.Ağır KOAH	FEV1/FVC < %70 %30 ≤ FEV1 < %50 (beklenenin)
IV.Çok Ağır (İleri) KOAH	FEV1/FVC < %70 FEV1 < %30 (beklenenin) ya da FEV1 < %50 (beklenenin) ile birlikte kronik solunum yetmezliği

2.1.15. Prognoz

KOAH'lı hastaların çoğunda yıllar içinde yavaş ancak kaçınılmaz bir kötüleşme ve solunum fonksiyonlarında progresif bozulma gözlenir. Bu bozulma nefes darlığına yol açtığı anda, ağır bozukluğa ilerlemenin 6 ile 10 yıl içinde gelişeceği tahmin edilebilir (43).

Genç yaş, hastalık öncesi yaşam kalitesinin iyi olması, mental durum ve kan basıncının iyi olması, kalp hızının yüksek, kreatinin, lökosit ve plazma glukozunun düşük olması, düzenli beslenme durumu, sigaranın bırakılması, kapsamlı bir rehabilitasyon prognozu olumlu etkiler. Pulmoner arter basıncı <20 mmHg olan hastalarda ortalama 5 yıllık yaşam %70 iken, bu değer >20 mmHg olanlarda %50'den az olmaktadır (43).

KOAH'da morbidite ve mortalitenin önemli belirleyicilerinden biri de FEV1'deki azalmadır. Sigaranın bırakılması, FEV1'deki azalma hızını yavaşlatır. Bu nedenle sigaranın bırakılması, hangi yaşta olursa olsun, prognozu olumlu yönde etkilemektedir. Hava yolu obstrüksiyonunun reverzibl olması iyi prognoz göstergesidir. Ağır hava yolu obstrüksiyonu ve hiperkapni varlığı kötü prognoz göstergesidir (107). İleri evre KOAH hastalarında kullanılan USOT (Uzun Süreli Oksijen Tedavisi) yaşam süresini artırmaktadır (43).

2.1.16. Tedavi

Günümüzde KOAH, önlenebilir ve tedavi edilebilir bir hastalık olarak kabul edilmektedir. KOAH tedavisinin dört temel yaklaşım şeması vardır:

1. Hasta eğitimi
2. Risk faktörlerinin azaltılması
(Maruziyetten kaçınma ve sigaranın bırakılması esasına dayanır.)
3. Stabil KOAH tedavisi
(Eğitim ve farmakolojik tedavi ile gerçekleştirilir.)
4. Alevlenmelerin tedavisi

Bu hedeflerin gerçekleştirilmesinde basamaklı bir tedavi yaklaşımı uygulanmaktadır. Tedavi planı hastalığın derecesi, komorbiditeler ve bireysel yanıtlara göre düzenlenir. Stabil KOAH tedavisi, farmakolojik ve nonfarmakolojik yaklaşımlardan oluşmaktadır. Farmakolojik tedavide bronkodilatatörler, inhaler kortikosteroidler ve kombinasyon tedavileri yer alır. Nonfarmakolojik tedavi yaklaşımları ise; pulmoner rehabilitasyon (PR), USOT, evde mekanik ventilasyon (EMV) ve cerrahi tedaviden oluşmaktadır.

Uzun etkili β_2 agonist (LABA) + inhaler kortikosteroid (İKS) düzenli kullanımının 3 yılda FEV1 kaybını anlamlı olarak azalttığının gösterildiği TORCH (TOwards a Revolution in COPD Health) çalışmasına (108) rağmen; çalışmaların çoğu günümüzde var olan ilaçların akciğer fonksiyonlarındaki kaybı önleyemediğini göstermektedir. Bu nedenle KOAH'da kullanılan ilaç tedavisi esas olarak semptomları ve/veya komplikasyonları azaltmaya yöneliktir. Semptomların kötüleşmesi ve akciğer fonksiyonlarındaki kaybın ilerleyici bir seyir göstermesi, tedavinin basamaklar şeklinde artırılmasını gerektirir.

2.2. SERBEST OKSİJEN RADİKALLERİ

Dış orbitallerinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş elektron bulunduran kısa ömürlü atom ve moleküller serbest radikal olarak tanımlanmaktadır. Elektriksel olarak pozitif yüklü, negatif yüklü veya nötral olabilirler (109,110). Serbest radikaller oldukça reaktiftirler ve bu yüzden çevrelerindeki atom ve moleküllere saldırırlar. Radikal olmayan maddelerle kolay etkileşime girmeleri onları da radikal yapmaları ve bir dizi zincir reaksiyonu başlatmalarından ötürü oldukça tehlikelidirler. Aerobik hücrelerde metabolizma esnasında veya patolojik durumlarda yan ürün olarak oluşabilirler ve hücrelerde geri dönüşümlü veya dönüşümsüz

değişikliklere sebep olabilirler (111). Bugün radikallerin hücre molekül değişimlerine, gen mutasyonlarına yol açtığı ileri sürülmekte, yaşlanma, hücrel destrüksiyon ve doku yıkımında rol aldığı kabul edilmektedir (112,113).

2.2.1. Serbest Radikaller ve Oluşumu

Biyolojik sistemlerde meydana gelen serbest radikallerin en önemlisi oksijen radikalleridir. Serbest oksijen radikalleri, normal hücre metabolizmasında oksijen içeren birçok biyokimyasal indirgenme reaksiyonları sonucunda oluşabilmektedir. Bu işlemlerde oksijen, elektron transport zincirinde direkt basamaklar halinde suya indirgenmekte ve her bir basamakta serbest oksijen radikalleri açığa çıkmaktadır. Kontrollü enflamatuvar reaksiyonun bir parçası olan fagositler tarafından, bazen iyonize radyasyon, ultraviyole ışığı, hava kirliliği, sigara dumanı, hiperoksi, fazla egzersiz ve iskemi nedeniyle de serbest radikaller meydana gelebilmektedir (111,114-116). Daha az olarak karbon ve kükürt merkezli olanları da vardır.

Serbest oksijen radikalleri canlılığın varlığı için belli oranlarda gereklidir. Mikrozoal ve mitokondriyal elektron transport zincirinden elektronların diffüze olması esnasında, nükleotid metabolizmasında hipoksantin ve ksantin basamaklarında, fagositik hücrelerde solunum patlaması esnasında, araşidonik asid metabolizması esnasında ve argininden nitrik oksitin (NO) sentezi esnasında da serbest oksijen radikalleri üretilmektedir (111,114-116).

Serbest radikaller başlıca üç temel mekanizma ile oluşmaktadır. Ya normal bir molekülün elektron kaybetmesi ile; veya moleküle elektron transferi ile dış elektron yörüngelerinde paylaşılmamış elektron kalması durumunda radikal formu oluşmakta; ya da kovalent bağların homolitik kırılması ile bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde paylaşılmamış olarak kalmakta ve radikal formu oluşmaktadır. Yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık kimyasal bağların kırılmasına neden olmaktadır (114,115).

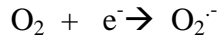
En Önemli Serbest Oksijen Radikalleri Şunlardır (114):

1. O₂.- (Süperoksit Radikali)
2. H₂O₂ (Hidrojen Peroksit)
3. HO (Hidroksil Radikali)
4. 1O₂ (Singlet Oksijen)

Tablo-V. Oksijen Türevi Bileşikler

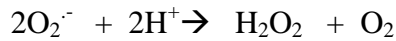
Radikaller	Radikal Olmayanlar
Hidroksil (HO [·])	Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂)
Alkoksil (RO [·])	Singlet Oksijen (O ₂)
Peroksil (ROO [·])	Ozon (O ₃)
Süperoksit (O ₂ ^{-·})	Hipoklorid (HOCl)
Nitrik oksit (NO)	Lipid Hidroperoksit (LOOH)
Azot dioksit (NO ₂)	Peroksinitrit (ONOO [·])

2.2.1.1. Süperoksit Radikali (O₂^{-·})



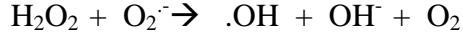
Canlılarda oluştuğu ilk gösterilen radikal olan süperoksit zedeleyici özelliği fazla olmayan bir serbest radikal türevi olup hidrojen peroksit (H₂O₂) kaynağıdır. Oksitleyici ve metal iyonları redükleyici etkisi vardır. Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin % 1-5 kadarı süperoksit yapımı ile sonlanmaktadır (114).

2.2.1.2. Hidrojen peroksit (H₂O₂)



H₂O₂, O₂'nin enzimatik olarak iki elektronla indirgenmesi ya da O₂^{-·} nin enzimatik ve enzimatik olmayan dismutasyon tepkimeleri sonucunda oluşmaktadır. H₂O₂ çok reaktif bir tür olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonunu başlatabilmekte ve antioksidanları oksitleyebilmektedir (114). Hidrojen peroksit özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek, yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturmaktadır. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilmektedir (114).

2.2.1.3. Hidroksil Radikali (OH)



O₂⁻, H₂O₂ ile reaksiyonu ile oldukça toksik ve son derece reaktif bir radikal olan $\cdot OH$ 'ni oluşturur. $\cdot OH$ radikali en reaktif radikal olarak bilinmekte ve her moleküle saldırarak hasar meydana getirebilmektedir. DNA'nın pürin ve pirimidin bazları ile etkileşebilir ve yeni baz modifikasyonlarının oluşumuna yol açabilir. $\cdot OH$ ile oluşan en iyi tanımlanmış biyolojik hasar, lipid peroksidasyonu olarak bilinen serbest radikal zincir reaksiyonudur (114).

2.2.1.4. Singlet Oksijen (1O₂)

Oksijenin uyarılmış şekline 'singlet oksijen' (1O₂) denir. Reaktivitesi çok yüksek bir oksijen türüdür. Doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksil radikalini oluşturmakta ve hidroksil radikali kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir. Özellikle karbon-karbon çift bağları singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlardır. Bu bileşiklerin başında bilirubin, tokoferoller, fenoller, karotenler, DNA, kolesterol, NADPH (Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat H), triptofan, metionin, sistein ve histidin gibi bileşikler gelmektedir. Bilirubin, karotenler, histidin, metionin ve bazı kimyasal bileşikler singlet oksijeni temizleyerek ona bağlı tepkimeleri inhibe edebilmektedir (117,118).

2.2.1.5. Nitrik Oksit (NO)



NO çok fazla biyolojik fonksiyonları bulunan bir moleküldür. Hücre membranlarından kolayca diffüze olabilen ve hedef hücreleri aktive edebilen yeni bir sinyal ileti molekülü olarak kabul edilmektedir. NO, nötrofiller, makrofajlar, endotel hücreleri, plateletler ve nöronlar tarafından üretilmektedir (119).

2.2.1.6. Peroksinitrit (ONOO-)

O₂·'in, fizyolojik bir serbest radikal olan NO ile birleşmesi sonucu da reaktif bir oksijen türevi olan ONOO- meydana gelir. ONOO-'lerin doğrudan proteinlere zararlı etkileri vardır (119).

2.2.2. Serbest Radikallerin Etkileri

Serbest radikaller, hücrelerin lipid, protein, karbohidrat, DNA ve enzim gibi bütün önemli bileşenlerine etki ederler. Bu etkiler aşağıdaki başlıklar halinde açıklanabilir:

2.2.2.1. Membran Lipidleri Üzerine Olan Etkileri

Serbest oksijen radikalleri, hücre ve organel zarlarında lipid peroksidasyonuna neden olabilir. Hücre zarlarında bulunan poliansatüre yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyona uğrayabilmektedir (119).

Serbest radikaller, hücrelerin oksidan savunma kapasitelerini aşan oranlarda oluştuğlarında organlarda çeşitli bozukluklara yol açarlar. Hücrelerin reaktif oksijen ürünlerine karşı en hassas komponentleri lipitlerdir. Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin yağ asitlerinden hidrojen atomunu çıkarması ile başlayan ve devam eden bir zincir reaksiyonudur (120). Araşidonik asit metabolizması sonucu oluşan serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonuna “enzimatik lipid peroksidasyonu”, diğer radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonuna ise “non enzimatik lipid peroksidasyonu” denir. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür (120).

Membran fosfolipidlerinin peroksidasyonu, permeabilitede ve membran akışkanlığında değişikliklere yol açmaktadır. Permeabilite özelliklerinin değişmesi anormal Ca²⁺ girişine yol açarak hücre fonksiyonlarının bozulmasına ve oksidasyonla fosforilasyonun ayrılmasına yol açabilmektedir. Sinir lifleri etrafındaki miyelin kılıfı peroksidasyonu (demyelinizasyon) nörolojik hastalıklara neden olabilmektedir (119,120). Lipid peroksidasyonu sonucunda; konjuge dienler, MDA (Malondialdehit), 4-HNE (4-hidroksinonenal), akrolein, izoprostanlar ile etan ve pentan gibi alkanlar meydana gelir. MDA, lipid peroksidasyonunun derecesi ile korelasyon göstermektedir. MDA, membran komponentlerinde deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özelliklerini değiştirebilmektedir (121,109).

2.2.2.2. Proteinler Üzerine Olan Etkileri

Proteinler serbest radikallere karşı lipidlerden daha az hassastır. Etkilenme dereceleri amino asit kompozisyonuna bağlıdır. Doymamış bağ ve sülfür içeren amino asitlerden meydana gelmiş proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler (119,109). Serbest radikallerin etkisi ile protein moleküllerinin yapısı değişmekte ve oksidasyon reaksiyonları sonucu büyük agregatlar haline dönüşebilmektedirler.

Proteinin temel yapısındaki değişme, antijenik yapıda değişmeye ve proteolize hassasiyete neden olur. Sonuçta enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonları bozulur (119). İmmunglobulin G (IgG) ve albumin gibi yapısında fazla sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin yapısı serbest radikallerin etkisiyle bozulur. Normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Sitoplazmik ve membran proteinleri, ozon ve protoporfirin IX gibi okside edici ajanlara bağlanarak dimerik bileşenlere veya daha büyük agregatlara dönüşebilir. Prolin ve lizin serbest radikallerle etkileşimlerinde nonenzimatik hidrosilasyona uğrayabilirler (119,122).

2.2.2.3. Karbohidratlar Üzerine Olan Etkileri

Monosakkaritlerin oto-oksidasyonu sonucu hidrojen peroksid, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelmektedir. Okzoaldehidler DNA, RNA (Ribo Nükleik Asit) ve proteinlere bağlanabilme özelliklerinden dolayı antimitotik etki gösterirler. Enflamatuar eklem hastalıklarında, sinovial sıvıya geçen lökositlerden extrasellüler sıvıya salınan H₂O₂ ve O₂, buradaki mukopolisakkarit olan hyalüronik asidi parçalamakta ve eklem hasarını artırmaktadır. Gözün vitröz sıvısında bol miktarda hyalüronik asit bulunduğundan, bunun oksidatif hasarı da katarakt oluşumuna katkıda bulunmaktadır (119).

2.2.2.4. Nükleik Asitler Üzerine Olan Etkileri

Reaktif oksijen ürünleri DNA polimerazı inhibe ederler ve DNA üzerinde de sitotoksik etkiye neden olabilirler. Hidroksil radikallerin DNA ile tepkimesi sonucunda baz modifikasyonları, baz delesyonları, zincir kırılmaları gerçekleşebilmektedir. Özellikle pirimidinler (timin) en hassas yapılardır. DNA halatlarının kopması, DNA çift sarmalı ayrılması sonucu hücrede mutasyonlar ve ölüm gelişebilmektedir (116,118).

2.2.3. İnsan Vücutunda Serbest Radikallerinin Hedef Organları

Yüzden fazla hastalık, serbest oksijen radikalleri ile ilişkilendirilmektedir. Serbest radikaller, sinir sisteminde intraventriküler hemoraji, periventriküler lökomalazi, travmatik beyin hasarı ve beyin tümörleri etyopatogenezinde rol oynamaktadır. Gözlerde ise katarakt, retinopati, maküler dejenerasyon oluşumuna neden olabilmektedir. Akciğer ve solunum sisteminde astım, amfizem, respiratuar distress sendromu, kronik obstrüktif akciğer hastalığına; böbreklerde ise glomerulonefrit ve renal yetmezlik sırasında doku hasarına neden olmaktadır. Gastrointestinal sistemde nekrotizan enterokolit ve Crohn hastalığı patogenezinde rol oynamakta, ayrıca hemoglobin ve immun sistem defektleri oluşturmaktadırlar. Serbest oksijen radikalleri ayrıca, erken yaşlanma, kanser, otoimmün hastalıklar, enflamatuar hastalıkların etyopatogenezinde de suçlanmaktadır (119).

Radyasyon, stres ve ksenobiyotikler aktive olmuş fagositlerde serbest radikal üretimini arttırlar. Aktive fagositler intrasellüler radikal oluşumuna neden olurlar.

Tablo-VI. Fagositlerin Ürettiği Reaktif Oksidan Ürünler

Trombositler	H_2O_2 , O_2^{\cdot} , OH^{\cdot}
Nötrofiller	H_2O_2 , O_2^{\cdot} , OH^{\cdot} , $HOCl$
Eozinofiller	H_2O_2 , O_2^{\cdot} , OH^{\cdot} , $HOCl$
Makrofajlar	H_2O_2 , O_2^{\cdot} , OH^{\cdot} , $HOCl$, NO^{\cdot}

Monositler, makrofajlar (kupfer hücreleri, alveolar makrofajlar) gibi fagositik hücreler, nötrofiller, eozinofiller, bazofiller gibi granülositler, immunojenik veya özel bir uyarı ile uyarıldıktan sonra lizozomlarını dışarı vermeye başlarlar. Reaktif oksijen oluşumunun yanısıra, mitokondri dışındaki oksijen üretiminde bir patlama (respiratory burst) olur. Fagosite edilmiş patojenler oksidan ajanlar tarafından öldürülür. Solunum yolu ile patlamanın (respiratory burst) amacı oksidan ajanlar sağlamaktır. Oluşan oksidan ajanlar patojenleri öldürmenin yanısıra myeloperoksidaz sistemine de etki eder. Hidrojen peroksit ve hipoklorit kombinasyonu myeloperoksidaz sistemine etkiyerek de güçlü bir antimikrobiyal aktivite gösterir. Bu radikaller memeli bakteri ve parazitlerine karşı sitotoksik etkiye sahip oksidan ajanlardır. Membran peroksidasyonu, membran proteinlerinin dekarboksilasyonu ve/veya oksidasyonuna yol açıp membran bütünlüğünü bozabilir ve DNA'yı okside ederek

parçalayabilir. Fagositik kaynaklı oksidan ajanlar; oto-toksik, immunosupresif ve mutajenik etki oluşturabilirler (123).

2.3. ANTIOKSIDANLAR

Antioksidanlar, serbest radikal oluşumunu önleyen veya serbest radikallerin temizlenmesini arttıran maddelerdir. Radikallerle oldukça ivedi reaksiyonlara giren ve oto-oksidasyon / peroksidasyonun ilerlemesini, ilk radikal ürünün reaktif karakterine bağlı olarak biyomoleküller ve hücresel yapılara saldırmasını önleyen maddeler olarak tanımlanır.

2.3.1. Antioksidan Sistemler

Antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmaktadır. Endojen antioksidanlar da, enzim olarak görev yapanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenmektedir. Enzim olan antioksidanlar: SOD, glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT), glutatyon S transferaz (GST), glutatyon redüktaz ve mitokondrial oksidaz sistemidir. Enzim olmayanlar ise, bilirubin, albumin, ürik asit, α - tokoferol, askorbik asit, seruloplazmin, transferrin, ferritin ve glutatyon gibi maddelerdir (115,119). Eksojen antioksidan olarak da allopurinol, folik asit, C vitamini, E vitamini, asetilsistein, mannitol, adenozin, kalsiyum kanal blokerleri, non steroid antienflamatuar ilaçlar ve demir şelatörleri sayılabilir (115,119).

2.3.2. Antioksidan Etki Tipleri

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler:

1. Toplayıcı etki (Scavenging etki): Serbest oksijen radikallerini tutma ya da çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine “toplayıcı etki” denilmektedir. Bilirubin, antioksidan enzimler, trakeobronşial mukus ve küçük antioksidan moleküller bu tip bir etki göstermektedirler (119,124,125).

2. Bastırıcı etki (Quencher etki): Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip, onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan ya da inaktif biçime dönüştüren etki “bastırıcı etki” olarak adlandırılmaktadır. Vitaminler, bu tarz bir etkiye sahiptirler (117,119).

3. Zincir kırıcı (Chain-breaking etki): Serbest oksijen radikallerine bağlanarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye “zincir kırıcı etki” denir. Bilirubin, hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler (119,126).

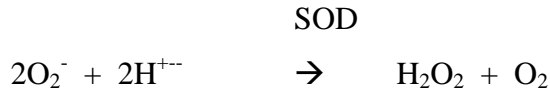
4. Onarıcı etki (Repair etki): Onarıcı etki üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Oksidatif hasar görmüş DNA molekülünü tamir eden enzimler bu guruba örnek olarak verilebilir (119,127).

2.3.3. İntraselüler Antioksidan Komponentler

Reaktif oksijen metabolitleri, SOD, GSH-Px, CAT ve sitokrom oksidaz gibi enzimatik ve GSH (Redükte glutatyon) gibi non enzimatik intrasellüler antioksidanlarca indirgenir.

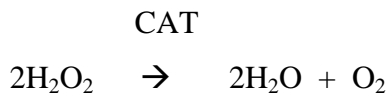
2.3.3.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

Antioksidan savunmanın ilk basamağında O₂·⁻'in H₂O₂'e dismutasyonunu katalizleyen SOD enzimini oluşturur (125).



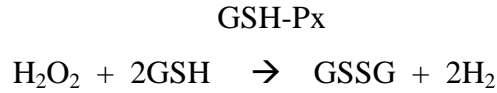
Bu reaksiyon “oksidatif strese karşı ilk savunma” olarak da adlandırılmaktadır. Bu sistem sayesinde hücrel kompartmanlardaki süperoksit düzeyleri kontrol altında tutulmaktadır. Lösemi, iskemi, hepatit, müsküler distrofi, respiratuar distress sendromu, böbrek yetmezliği, Fankoni anemisi, akciğer enfeksiyonları ve motor nöron hastalıkları gibi serbest radikal açığa çıkaran olaylarda ve hastalıklarda koruyucu rol oynadığı düşünülmektedir. Aynı zamanda SOD, lipit peroksidasyonunu da inhibe etmektedir. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanan dokularda fazladır (112,119,128).

2.3.3.2. Katalaz (CAT)



Yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Etkisini H₂O₂ gibi küçük moleküllere karşı gösterir. Büyük moleküllü lipid hidroperoksitlerine ise etki etmez (125). Hidrojen peroksidi su ve oksijene ayrıştırır. Kan, kemik iliği, karaciğer, böbrek ve müköz membranda yüksek miktarda bulunmaktadır. Katalaz hücreyi kendi respiratuar patlamasına karşı koruyucu olarak hizmet etmektedir (115,128).

2.3.3.3. Glutasyon Peroksidaz (GPx)



Sitozol ve mitokondrilerde SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksit ve yağ asidi hidroperoksitlerini ortadan kaldırmaktadır. Düşük hidrojen peroksit konsantrasyonunda çalışmaktadır. Glutasyon peroksidaz fagositik hücrelerde önemli fonksiyonlara sahiptir. Diğer antioksidanlarla birlikte GPx, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu, fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de GPx oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GPx aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar (112,129). H₂O₂ 'nin yüksek konsantrasyonunda CAT, düşük konsantrasyonunda ise GSH-Px etkin rol oynar (119).

2.3.3.4. Glutasyon Redüktaz (GSSGR)

Glutasyon peroksidaz tarafından hidrojen peroksit ve diğer lipit peroksitlerin yükseltgenmesi sırasında glutasyon, okside glutatyona dönüşmektedir. Oksidasyona uğramış bu yapıyı tekrar kullanmak için redükte glutatyona dönüştüren enzim glutasyon redüktazdır (119).

2.3.3.5. Redükte Glutasyon (GSH)

Vücutta enzimatik olmayan en önemli antioksidandır. Proteinleri redükte halde tutarak bu grupları oksidasyona karşı muhafaza eder. Böylece, proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonuna engel olur. GSH hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşmesini önler. Eritrosit zarını hidrojen peroksitten (H₂O₂)'den, lökositleri fagositozda kullanılan oksidan maddelerden ve lens proteinlerini oksidatif hasarlardan korur (119).

2.3.4. Membran Antioksidanları

Membranların hidrofobik lipid yüzünde intraselüler ortamdan farklı olarak lipidlerde çözünen ve hücresel enzimlerle yok edilemeyen radikaller üretilir. Başta α-tokoferol (Vit E) olmak üzere, β-karoten, ubiquinal bileşikler ve koenzim Q temel membran antioksidanlarıdır. Ubiquinol düşük dansiteli lipoproteinlerde oto-oksidasyonu önler. β-karoten oldukça aktif bir radikal toplayıcıdır ve aktivitesi ortam oksijen konsantrasyonuna bağlıdır (129).

2.3.5. Ekstraselüler Antioksidanlar

Transferrin, laktoferrin, haptoglobulinler, albumin, seruloplazmin, bilirubin, ürik asit gibi proteinler ve glukoz temel ekstraselüler antioksidanlardır. Hücreler arası ortamda üretilen serbest radikal metabolitlerinin, demir ve bakır gibi katalizör metal iyonları ile karşılaşmalarının engellenmesi, ekstraselüler antioksidan savunmanın temel yoludur. Örneğin, demir taşıyıcı protein olan transferrin demir bağlayarak plazma serbest demir konsantrasyonunu düşürür. Böylelikle bağlı demir iyonları serbest radikal reaksiyonlarını katalizleyemez ve tepkime sayısı azaltılmış olur. Laktoferrin nötrofillerde radikal oluşumunu önlerken; seruloplazmin bakırı bağlar, glukoz, urat ve bilirubin ortamdaki radikalleri temizler (129,130,131) .

2.3.6. Total Antioksidan Seviye (TAS)

Normal fizyolojik koşullarda organizma, endojen veya eksojen nedenlerle oluşan serbest radikaller ve bunlara bağlı oluşan oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan defans sistemine sahiptir. Vücudun oluşan oksidan durumlara karşı redoks ayarını sürdürebilmesinde kan çok önemlidir. Çünkü kan antioksidanların vücudun tüm bölümlerine taşınmasını ve dağıtımını gerçekleştirmektedir (131).

Total antioksidan kapasiteye en büyük katkı plazmadaki antioksidan moleküllerden gelmektedir. Plazmada bilirubin, serbest demiri toplayan transferin ve seruloplazmin, ürik asit, E vitamini, C vitamini gibi proteinler yanında serbest radikalleri tutan zincir kırıcı antioksidanlar da bulunmaktadır. Albumin, ürik asit, askorbik asit insan plazmasındaki total antioksidan kapasitenin %85'inden fazlasını oluşturmaktadır. Bunun nedeni, kanda bilirubin, glutatyon, flavinoidler, alfa-tokoferol ve beta-karoten gibi antioksidan sistemin komponentlerine nazaran albumin, ürik asit ve askorbik asitin seviyelerinin fazla olmasıdır (126,132,133).

Plazmada antioksidanlar bir etkileşim içinde bulunurlar. Genel olarak bu maddeler sinerjistik olarak çalışmaktadırlar. Bu etkileşimden dolayı, bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla bir etki oluşmaktadır. Bu sinerjizme örnek glutatyonun askorbatı, askorbatında tokoferolün yeniden aktifleşmesini sağlaması gösterilebilir. Ayrıca bir antioksidandaki azalma diğerindeki artış ile kompanse edilebilmektedir. Total antioksidan kapasitenin ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgiler vermektedir (133,134,135).

2.3.7. Total Oksidan Seviye (TOS)

Oksidatif stres; vücudumuzda mevcut oksidatif-antioksidatif dengenin oksidanlar lehine bozulması sonucu meydana gelen patolojik durumdur. Oksidatif stresin toplam değeri; TOS olarak ifade edilir. Bu fenomen, aşırı reaktif oksijen ve/veya nitrojen türlerinin üretimi veya antioksidan tampon mekanizmasının eksikliği sonucu oluşur. Reaktif oksijen ve nitrojen ürünleri toksiktir ve hücrenin lipid, protein ve DNA gibi biyomoleküllerine zarar verir. Damar endoteli de bu durumdan kısmen etkilenmektedir.

2.3.8. Oksidatif Stres İndeksi (OSI)

Total peroksidlerin, total antioksidanlara bölünmesiyle elde edilen oransal bir indekstir. OSI'nin yüksek olması oksidatif stresin arttığını gösterir (136-138).

$$\text{OSI} = \frac{\text{TOS}}{\text{TAS}} \times \text{AU X faktör}$$

2.4. PROLİDAZ

2.4.1. Prolidazın Tanımı

Prolidaz hidrolazlar sınıfına ait bir enzimdir (139). Uluslararası sınıflandırmaya göre; EC 3.4.13.9 sınıfında yer alır. Hidrolazlar çeşitli bağların hidrolizini katalize ederler. Bu bağlar; C-O, C-N, C-C ve fosforik anhidrit bağını da içeren bazı bağlardır. Prolidaz enzimi karboksil terminal pozisyonundaki prolin veya hidroksiprolin içeren dipeptitlerin hidrolizini katalizler. 1937 yılında Bergmann ve Fruton glisil-prolin'in önceden bilinen peptidazlardan farklı intestinal mukozal bir enzim tarafından hidroliz edildiğini saptamışlardır. O tarihten itibaren prolidaz adı verilen bu enzimin pek çok memeli dokusunda varlığı gösterilmiştir (140).

2.4.2. Prolidazın Yapısı

Prolidaz enzimi birçok memeli dokusunda ve mikroorganizmalarda dağılım gösterir. Doğal enzim, sitoplazmik, homodimerik bir metalloenzimdir. Mn^{+2} prolidaz enzimi aktivitesini 5-10 kat arttırmaktadır. Mn^{+2} 'e ek olarak enzimin maksimum aktivitesi için aktif merkezinde arjinin ve anyonik amino asit artıklarının olması gerekir.

Proteazlar hep monomer yapıda olmasına rağmen tüm prolidazlar dimer yapı gösterirler ve ancak bu şekilde katalitik aktivite gösterirler (141). Prolidaz glikoprotein yapısındadır ve ağırlık olarak %5 karbonhidrat içermektedir. Prolidazın saptanan sekonder yapısında α -heliks tabaka (%33), β -tabaka (%41) ve % 30 potansiyel beta bağlantı bölgelerine eşit bir şekilde dağılmış hidrofobik ve hidrofilik alanlar bulunmaktadır. Enzimin primer sırası bilinen proteinlere benzemez fakat bazı sıraları (%29'dan fazlası) F1-ATP az'ın α ve β subünitelerinin sırasına benzerlik göstermektedir (141).

Prolidaz enziminin aktif merkezinde tiyol grubu yer alır ve bu grup bloke edilirse aktivite düşer. Bu da sisteinin enzimin aktivitesi için gerekli olduğunu gösterir. Doğal enzim için optimum pH 7,6-7,8'dir ve izoelektronik nokta pH'sı 4,4-4,5 olarak saptanmış olup bu değer yapıdaki asidik amino asitlerin varlığını belirtmektedir. Enzimin karakteristiği araştırıldığında DEAE (Dietilaminetil) selüloz dizi kromatografisinde prolidazın iki pik verdiği görülür (141).

2.4.3. İnsan Prolidazının Primer Yapısı ve Gen Lokalizasyonu

Prolidaz geni sembolü PEPD'dir ve insanda 19 numaralı kromozomun kısa kolunda lokalizedir. (19p 13,2 bölgesi) İnsan cDNA 'sı 1482 baz çiftinin okunmasıyla oluşur bu da 493 amino aside karşılık gelmektedir. Enzimin komplementer DNA klonları insan karaciğeri ve plasental cDNA bankalarında izole edilmiştir. Prolidazın nükleotid sırası araştırılmış ve belirlenmiştir. Enzim amino asit olarak X-Ala-Ala-Ala sırası ile başlamaktadır. Prolidaz geni (PEPD) polimorfik allelleri içerir, bu aktiviteyi engellemez ve nadir alleller prolidaz eksikliğine neden olmaktadır. Amino asit sırasının saptanması ve gen lokalizasyonu enzimin eksikliğinin sebep olduğu kalıtsal hastalıkların temelinin anlaşılması bakımından önemlidir (141).

2.4.4. Prolidazın İzoenzimleri

DEAE ile deri fibroblastı kültürlerinden ve normal insan eritrositlerinden ayrıştırılan prolidazın iki formunun olduğu görülmüştür. Bunlar prolidaz I ve prolidaz II olarak isimlendirilmiştir. Bu iki izoenzim substrat spesifitesi ile bazı kimyasal özellikler bakımından farklılıklar gösterirler (142).

Prolidaz I tüm insan dokularında bulunur. Yapılan çalışmalarda prolidaz I 'in tüm iminodipeptitlerle reaksiyona girmesine rağmen gly-pro dipeptidini tercih ettiği bulunmuştur. Cosson ve arkadaşları 1992 'de prolidaz II nin gly-pro dipeptidine karşı düşük bir aktivite gösterdiğini ve bu izoenzimin plazmada bulunmadığını kaydederek preinkübasyonun uzaması ile aktivitenin önemli ölçüde düştüğünü göstermişlerdir (143). Prolidaz II'nin en yüksek aktiviteyi gly-pro yerine met-pro 'ne karşı gösterdiği saptanmıştır. Prolidaz I için optimum şartlar; 1Mm MnCl₂ konsantrasyonunda 24 saat 37°C'de preinkübasyon olduğu bildirilmiştir. Ayrıca Mn⁺² konsantrasyonunun yükseltilecek zamanın azaltılabileceğini ya da yüksek preinkübasyon ısı, düşük MnCl₂ konsantrasyonu ve düşük preinkübasyon zamanının kullanılabileceği kaydedilmiştir (144).

Cosson ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda prolidaz I ve prolidaz II 'yi kromatografik olarak ayırdıktan sonra izoenzimlerin farklı doku dağılımları gösterdiklerini bulmuşlardır. Araştırmacılar karaciğer kaynaklı prolidaz II' nin karaciğerde inhibe edildiğini saptamışlardır. Bu inhibisyona ise plazma proteinlerinin sebep olduğunu belirtmişlerdir. Haptoglobulin, α₂-makroglobulin ve α₁-antitripsinin prolidaz II'nin aktivitesinde etkili olmadığı fakat saf albuminin altı saatlik inkübasyondan sonra aktiviteyi ortadan kaldırdığı görülmüştür. Albuminin bu inhibitör etkisine dayanarak insan plazmasında prolidaz II'nin aktivitesinin olmadığı açıklanmıştır (145).

Saf insan böbrek prolidaz I'inin agaroz jel elektroforezindeki görüldüğü bölge α₁-globulin bölgesidir. İzoelektrik noktanın 4,65 olduğu titrasyon eğrisinden saptanmıştır. Bu nokta insan ve hayvan dokularındaki diğer prolidazlar içinde geçerli olmaktadır. Çeşitli insan dokularından alınan prolidaz I izoenzimi tavşan immunglobulinleri ile çapraz reaksiyon verir fakat aynı immunglobulinler prolidaz II ile reaksiyon vermez. Bu durum hepatik fibrozis ve prolidaz eksikliği olan hastaların dokuları ve plazmalarından prolidaz I araştırmalarında bir spesifik immünoassay yöntem geliştirilebileceğini akla getirmiştir.

Tablo-VII. İnsan Prolidaz I ve Prolidaz II İzoenzimlerinin Doku Dağılımları

	Prolidaz I (%)	Prolidaz II (%)
Karaciğer	53	47
Böbrek	62	38
İleum	53	47
Jejunum	53	47
Duadenum	42	58
Pankreas	22	78
Mide	42	58
Dalak	52	48
Beyin	36	64
Beyincik	44	56
Kalp	37	63
İskelet kası	34	66
Eritrositler	51	49

Araştırmacılar karaciğer kaynaklı prolidaz II' nin karaciğerde inhibe edildiğini saptamışlardır. Bu inhibisyona ise plazma proteinlerinin sebep olduğunu belirtmişlerdir. Haptoglobilin, α 2-makroglobulin ve α 1-antitripsinin prolidaz II'nin aktivitesinde etkili olmadığı fakat saf albuminin altı saatlik inkübasyondan sonra aktiviteyi ortadan kaldırdığı görülmüştür. Albuminin bu inhibitör etkisine dayanarak insan plazmasında prolidaz II'nin aktivitesinin olmadığı açıklanmıştır (145).

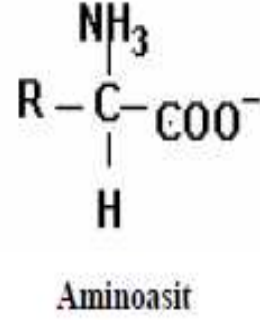
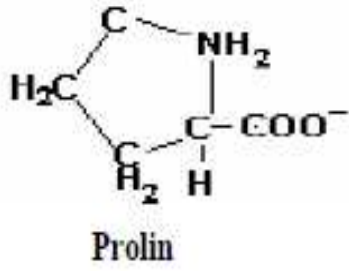
2.4.5. Prolidazın İnhibitör ve Aktivatörleri

Yapılan çalışmalarda enzimin aktivasyonu için gerekli olan Mn^{+2} iyonu yerine başka metal iyonlarının ilavesi ile inhibisyon olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmalar domuz böbrek prolidazı üzerinde 1957 yılında yapılmıştır. Fe^{+2} , Co^{+2} , Ni^{+2} , Cu^{+2} , Zn^{+2} , Cd^{+2} , Ag^{+1} , Hg^{+2} , Pb^{+2} ve Pt^{+4} iyonlarının prolidazı inhibe ettiği bulunmuştur. Ortalama 0,001-0,0004 M aralığındaki konsantrasyonlarda glutasyon kullanıldığında optimal stabilizasyon ve aktivite sağlandığı ancak glutasyonun yüksek konsantrasyonunun inhibisyona sebep olduğu bulunmuştur. Aynı araştırmacılar iyodoasetamin ve p-kloromerküri benzoatın da enzimi inhibe ettiğine değinmişlerdir (146). Prolidazın substrat analogu olan asetilprolin ve trans-1,2 siklopentadikarboksilik asit tarafından kompetitif inhibisyonunda K1 'in pH 'ya bağlı olarak izledikleri yolu araştırdıklarında enzimin fonksiyonel grubu ile substratın pKa [pKa] (Asit-baz titrasyonlarından veya iletkenlik ölçmelerinden tayin edilebilen asit ayrışma sabitinin (-) logaritması.) 6,6 'da bağlandığını bununla birlikte bu maddelerin inhibisyonunun farklı yollar izlediğini görmüşlerdir (147).

1988 yılında yapılan bir çalışmaya göre Mn^{+2} ve Fe^{+2} metal iyonlarının enzim aktivitesine önemli bir etkisinin olmadığı bulunmuştur. Bundan başka Co Leu-Pro dışındaki substratlara karşı prolidazı inhibe eder. Cu^{+2} , Hg^{+2} , Cd^{+2} , Zn^{+2} , Pb^{+2} iyonlarının da enzimi önemli derecede inhibe ettiği gözlenmiştir (148).

2.4.6. Prolin

Prolin ve hidroksiprolin prolidino halkasındaki azot atomuna bir hidrojen atomunun girmesi ile oluşmaktadır. Bunlar genelde iminoasit ismiyle adlandırılır. Amino asitlerin iminoasitler sınıfında yer alan esansiyel olmayan glutamatın halka yapısındaki bir türevidir. Bu amino asit diğer amino asitlerden yan zinciri radikal grubunun hem amino grubu hem de α -karbon grubuna bağlı olarak siklik bir yapıya yol açması yönünden farklıdır. Bu anlamda nitrojen atomunun kimyasal modifikasyonu prolin amino asitinin genel polaritesini ve basitliğini etkilemektedir. Dahası bu amino asitin siklik yapısı polipeptid omurganın yapısal yönlerine temel sınırlamalar getirmektedir. Prolin ve diğer bir amino asidin yapısal görünümü Şekil-2 de gösterilmiştir.



Şekil-2. Prolin ve Diğer Bir Amino Asidin Yapısal Görünümü

2.4.7. Prolinin Yapısal Özellikleri

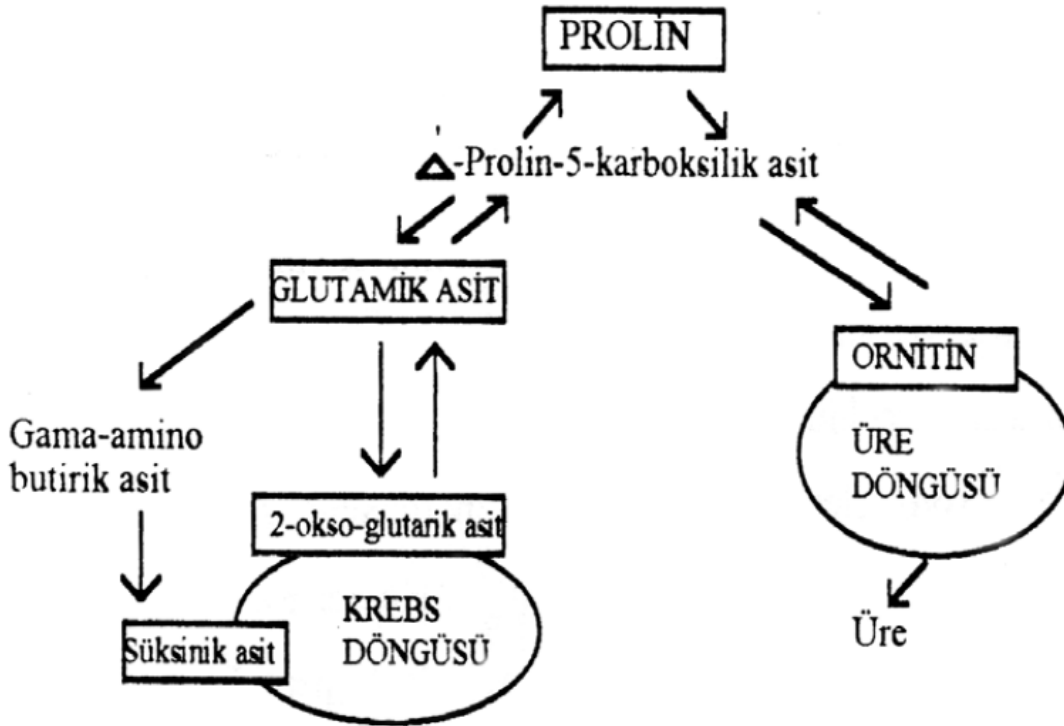
Benzersiz yapısal özellikten dolayı prolin bir peptid sekansına girdiği zaman önemli konformasyonel özellikler gözlenir. Bunun siklik yapısı α -karbon ve nitrojenin bir peptid bağındaki rotasyon açısını sınırlamaktadır ki normal olarak bitişik amino asitlerin reel grupları arasındaki sterik engelleme veya elektrostatik repulsiyona bağlıdır. Prolin potansiyel bir mükerrer yapı kırıcı olan ve peptid zincirlerinin yönünü değiştirme eğilimine sahip peptid zincir içine sabit bir eğim takdim eder. Bu durum proteinlerin sferik veya globüler şekllenden dolayı etkileyici bir faktördür. Proteinlerin yüzeyinde ters bir dönüş veya saç tokası eğimi şeklinde olan bu önemli yapısal olayın proteinler içindeki en önemli sonucu prolin oluşmasıdır.

Prolin siklik yapısının ikinci bir sonucu hiçbir fonksiyonel grup içermemesidir ki bu durumda hidrojen bağına veya peptid bir bağı rezonans stabilizasyonuna katılmayı engeller. Bu nedenle prolin α helix veya β tabakalı sekonder yapılarıyla uyumlu olmayan tek amino asittir. Ancak prolin multipl prolin amino asidinin bir protein içinde birikimli olduğu zaman sol elli bir helikal yapı ortaya koyar. Bu çok yaygın bir durum olmasına rağmen bovin pankreas tripsin inhibitöründe 5-7 amino asitleri için rapor edilmiştir. Prolin yapısal özelliklerine belirgin bir şekilde bağlı olan ikinci bir helikal formasyon da kemik, tendon ve destekleyici membran dokularının ana bileşeni olan kollajendir (149).

2.4.8. Prolinin Biyolojik Önemi

Kollagen yapısında yer alan en önemli amino asitler prolin ve hidroksprolindir. Hidroksprolin hidrogen yapım ve yıkım reaksiyonlarında açığa çıkar. Prolinin oynamış olduğu bir anahtar fizyolojik rol, biyolojik olarak aktif peptidlerin enzimatik degradasyona karşı korunmalarını sağlamaktır. Bu durum peptid veya protein prekürsörlerinin post translasyonel modifikasyonlarının regülasyonunda açıkça bellidir. Polipeptid zincirlerin içinde yerleşik olan prolin amino asitler polipeptid zincirin hassasiyetini proteolizle sınırlayan yapısal unsurlar olarak hareket ederler ve zincirlerin enzimatik süreci öncesinde modifikasyon bölümünde mevcuttur. Bu durum peptidlerin post translasyonel modifikasyonunda görev alan ekzopeptidazların özelliği ile ilişkili araştırmalarda gösterilmiştir ve pek çok biyolojik olarak aktif peptidlerin amino ucuna yakın yerlerde ortaya çıkan prolin gözlemiyle desteklenmektedir (150,151). Prolin ayrıca krebs ve üre döngüleriyle metabolik olarak bağlantılıdır. Prolin-5-karboksilik asit prolin metabolizmasında iki döngüyü birbirine bağlayan bir pozisyondadır. Prolinin karbon zincirinden krebs döngüsüne geçişi tüm dokularda bilinen klasik yoldan 2-okso-glutarik asit metabolizması ile olur (152).

Prolin Krebs ve üre döngüleriyle metabolik bağlantısı ile ilgili şekil aşağıda gösterilmiştir.



Şekil-3. Prolin Krebs ve Üre Döngüleriyle Metabolik Bağlantısı

2.4.9. Kollagen

Kollagen; yapısında her beş amino asitten biri prolin veya hidroksiprolin bulunan önemli bir destek proteiniimizdir. Kemik, diş, tendon, deri, damarlar gibi birçok dokuda yer almaktadır. Kollagenin primer yapısı polipeptid zincirindeki her üç pozisyondan birinde en küçük amino asit olan glisinin bulunması açısından değişiktir. Glisin heliks yapıdaki kollagenin üç zincirinin bir araya geldiği kısıtlı alana sığabilir. Glisin kalıntıları, Gly-X-Y olarak tekrarlayan X'in genellikle prolin olduğu ve Y'nin sıklıkla hidroksiprolin veya hidroksilizin olduğu düzenin parçasıdır.

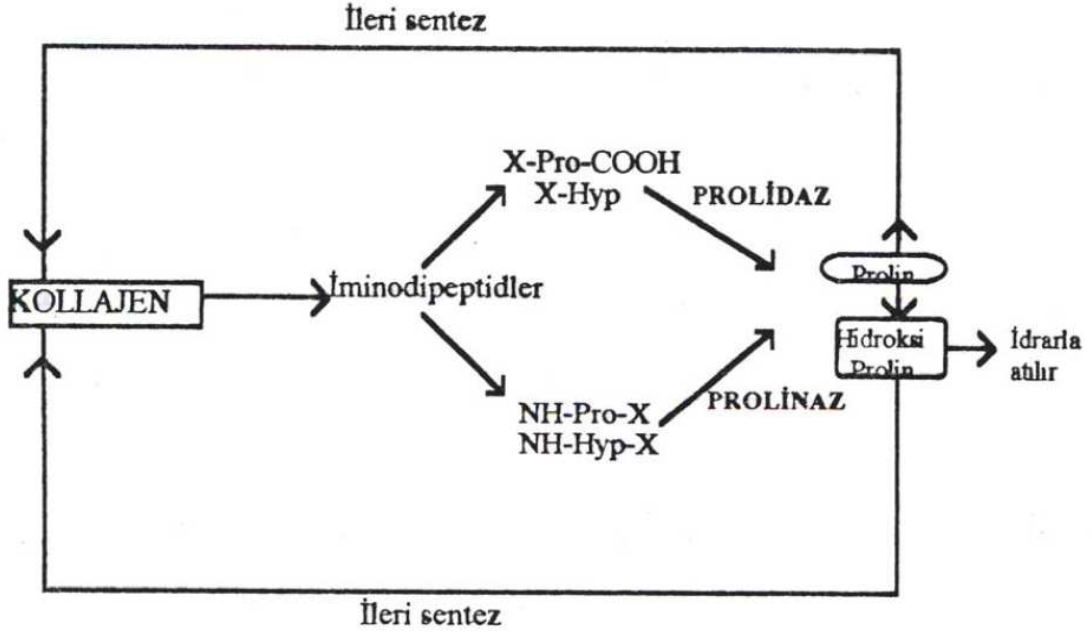
Vücudumuzda önemli birçok dokunun yapısında yer alan kollagenin döngüsünde prolidaz spesifik bir enzim olduğu için önemi büyüktür. Kollagenin yıkımında ve prolinin kollagen yapımı döngüsüne yeniden katılımında prolidaz aktif görev almaktadır.

2.4.10. Prolidazın Kollagen Yapım ve Yıkımındaki Önemi

Kollagen yıkımı interstisyel kollagenaz enziminin kollagen molekülünün amino ucuna yakın bir yüzeyine bağlanmasıyla başlar. Üçlü sarmal yapıdaki kollagen molekülüne etkili enzim orijinal kollagen molekülünün %25 ve %75 kadarını taşıyan iki adet sarmal yapıda molekül açığa çıkarmaktadır. Sarmal yapıları dayanıklı olmayan bu küçük moleküllerin vücutta parçalanması ile elde edilen polipeptitler proteazlar tarafından daha küçük peptitler veya serbest amino asitlere yıkılmaktadır (153).

Prolidazın bütün biyolojik fonksiyonunun prolin döngüsüyle beraber kollagen dejenerasyon ürünleri ve diğer Xaa – Pro dipeptidlerin metabolizması olduğuna inanılmaktadır. Prolidaz C-terminalinde amino asiti prolin veya hidroksiprolin olan dipeptidleri hücre içinde hidroliz eder. Prolin yeniden döngüye girer ve yeni protein sentezinde kullanılırken hidroksiprolin idrarla atılmaktadır (154). Kollagen dokudaki amino asitlerin yaklaşık %25'ini prolin ve hidroksiprolin oluşturduğundan prolidaz kollagen yıkımında önemli rol oynamaktadır (155).

Prolidaz hücre içi protein yıkımının son basamağında özellikle yüksek miktarda prolin içeren prokollagenin yıkımı aşamasında rol oynamaktadır. Enzim için substrat kaynağı kollagen olup imminopeptidler kollagenin yıkımının son basamağında ortaya çıkmaktadır (156).



Şekil-4. Kollagen Yıkımında Prolidaz ve Prolinazın Yeri (154)

2.4.11. Prolidazın Hastalıklarla İlişkisi

Prolidaz beslenme ile alınan proteinlerden ve vücuttaki depo kollajeninden imino asitlerin geri kazanılmasında önemli rol oynar. Prolidaz C-ucunda prolin veya hidroksprolinin imino azotunu içeren peptid bağı bulunduran bileşiklerin hızlı hidrolizini katalizleyen tek enzim olduğu için spesifitesi yüksektir. Prolidaz eksikliği prolinin normal döngüsündeki bozulmayla sonuçlanır. Prolidaz eksikliğinde büyük miktarda prolin ve hidroksprolin üre ile dışarı atılır. İmino peptidler gibi amino asitleri bağlar ve sonuç olarak toplam prolin eksikliği oluşur. Prolidaz enzim aktivitesi eritrosit, lökosit ve fibroblastlarda çok düşüktür. Etkilenen hasta bireylerde prolidaz enzim aktivitesi saptanamaz. İmino peptidüri aynı zamanda raşitizm, hiperparatiroidizm ve paget hastalığı gibi durumlarda tanımlanır. Fakat imino peptidüri prolidaz eksikliğinde çok daha yüksektir.

Prolidaz eksikliği cilt ve diğer kollajen dokulardaki anormallik sendromuyla sonuçlanır. Etkilenen bölümler idrara aşırı miktarda imino peptid salgırlar ve bu peptidler prolidaz için substrat olarak görev yaparlar (155,156). Bu nadir genetik eksiklik otozomal resesif özellik olarak kalıtımsaldır (157).

Prolidaz geni başka bir kalıtımsal rahatsızlık olan miyotonik distrofi ile ilgili olması açısından önemlidir. Prolidaz açlığı, kronik deri ülseri, tekrarlayan enfeksiyonlar, zeka geriliği, splenomegali, karakteristik yüz görünümü (zayıf saçlar, yassı burun, düz alın, kalın

dudaklar, hipertelarizm) gibi çeşitli klinik bulgularla bağlantılıdır. İlk defa 1968 yılında Kodama tarafından tanımlandı. 1974’de Powell ve arkadaşları prolidaz eksikliği olduğunu gösterdi (158).

Kardiyak matriks başlıca tip I ve tip III kollagen içerir. Kollagen yapımı enflamatuvar hücrelerin bu alana göçü ve salgıladıkları sitokinlere [transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) ve interlökin-1 β (IL-1 β)] bağlı olarak uyarılır ve kardiyak dokuda fibrozis gelişimi ile sonuçlanır. Kardiyak ileti sistemindeki yapısal değişiklikler ise iletim bozukluklarına neden olmaktadır (159,160,161).

Yukarıda da belirttiğimiz gibi kollagen tip I ve tip III kardiyak matrikste en yoğun bulunan ekstrasellüler matriks proteinleri olup total kollagen miktarının yaklaşık % 80-90’nı oluştururlar. Kollagen yapısındaki amino asitlerin % 25’ni prolin ve hidrokisprolin oluşturmaktadır. Miyokardiyal fibrozis, hipertrofi ve infarktüse bağlı kardiyak hasar durumunda tip I/III kollagen oranındaki değişiklik matriks yapısının değişmesine ve sonuçta miyokard işlev bozukluğuna neden olmaktadır (162).

Kollagen ardarda bir kaç reaksiyonla iminodipeptidlere ve bunlar da serbest amino asitlere ayrılır. Bu amino asitler genel sistemik amino asit havuzuna katılmadan tekrar kollagen yapımına girer. Prolin ve hidrokisprolinin her biri kollagendeki amino asitlerin % 10’unu oluşturur. Fakat hidrokisprolin kollagen sentezine katılmadığından ve polipeptid zincirinin posttranslasyonel modifikasyonu sonucu prolinin hidrokisillenmesiyle ortaya çıktığından dolayı kollagendeki amino asitlerin % 20 kadarını prolinin oluşturduğu kabul edilir (163).

Kollagen yıkımının son basamağı prolidaz aracılığı ile olmaktadır. Prolidaz kollagen sentezi ve hücre gelişiminde görevli prolinin dönüşümünde önemli rol almaktadır. Normal serum prolidaz değeri 1000 U/L’nin altındadır. 1500 U/L’yi aşan değerler kronik karaciğer hastalıklarında görülür. Diyabetiklerde serum prolidaz aktivitesinin oldukça düşük olduğu saptanmıştır (164). Yapılan bir çalışma siroz hastalarında, serum prolidaz seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunduğunu ve kollagen döngüsünün insan karaciğerinde sirozun gelişimiyle değiştiğini ve prolidaz aktivitesinin bu dejeneratif karaciğer hastalığında kollagen metabolizmasının bozukluklarını yansıtabileceğini ortaya koymuştur. (165). Kronik etanol ve selenyum verilen sıçanların karaciğerlerinde prolidaz I aktivitesi kontrollere oranla artmış bulunmuştur (166).

Prolidaz aktivitesi birçok dokuda ve amniotik sıvıda belirlenmiştir (167,168). Prolidaz enziminin genetik eksikliğinin sonucunda mental gerilik, tekrarlayan infeksiyonlar ve deri lezyonları ile karakterize bir klinik tablonun ortaya çıktığı bildirilmiştir (169). Prolidaz eksikliği olan kişilerde prolidaz I aktivitesinin deri fibroblast kültürlerinde ve kan hücrelerinde azaldığı gösterilmiştir (170). Bu nedenle plazma prolidaz aktivitesindeki artış fibrozisin bir indikatörü olarak kabul edilir (171). Fibrozis bazı akciğer hastalıklarında ortaya çıkabildiğinden plazma prolidaz aktivitesinin de bazı akciğer hastalıkları ile bağlantılı olması muhtemeldir (172).

KOAH hastalarında sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında belirgin düzeyde azalmış plazma prolidaz aktivitesi gösterilmiş bunun da azalmış kollojen döngüsünün bir kanıtı olabileceği düşünülmüştür (173). Oono ve ark. kronik yara iyileşmesinde prolidaz enzim değerininin yaradan alınan sıvı örneklerinde ve blister (küçük kabarcıklar) oluşan hastalıklarda blister içi sıvı örneklerinde arttığını bildirmişlerdir (174). Kemik hastalıklarında hiçbir zaman yüksek prolidaz değerine rastlanmamıştır (175).

2.4.12. Prolidaz Aktivite Düzeyinin Ölçümünde Kullanılan Yöntemler

Alparslan ve arkadaşları 1993 yılında viral hepatit, kronik aktif hepatit ve sirozlu hastaların serum prolidaz aktivitesini Chinard metoduyla ölçmüşlerdir. Bu hastaların serum prolidaz aktiviteleri bu metotla ölçülmüş ve değerleri kontrol grubundan anlamlı derecede farklı bulunmuştur (176). 1989 yılında prolidaz eksikliğinin moleküler analizinin yapıldığı bir çalışmada prolidaz aktivitesini fare monoklonal IgG'leri ile hazırlanmış agaroz kullanarak immün presipitasyon yöntemi ile saptamışlardır (177). Radzicka ve grubu ise prolidaz inhibitörleri ile ilgili yaptıkları çalışmada, pH:6'da K+-MES (4-morfolino etanosülfirik asidin monopotasyum tuzu) tamponunda 222 nM'de Gly-Pro dipeptidinin kromofor grubunun kaybolması temeline dayanan devamlı spektrofotometrik bir yöntem geliştirmişlerdir. Bu yöntemi Mock ve arkadaşları da, N-açıl prolinin prolidaz ile parçalanmasındaki pH'nın rolünü araştırdıkları çalışmada kullanmışlardır (147,149). Başka bir çalışmada ise deri fibroblast kültürü ile elde edilen prolidazın aktivitesi kapiller elektroforez ile saptanmıştır. Ayrıca sonuçlar kolorimetrik bir yöntem olan Chinard ile de tekrarlanmıştır (178). Bu konuda yapılan birçok çalışmada enzim aktivitesi ölçümünde modifiye edilmiş Chinard yöntemi kullanılmıştır (179,180,181). Chinard metodu olarak isimlendirilen kolorimetrik yöntem serbest prolin oluşumunu ölçen etkin bir metoddur (182).

3. MATERYAL - METOD

Bu çalışmaya Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi Göğüs Hastalıkları Polikliniği'ne başvuran, KOAH tanısı konmuş, 55 gönüllü erkek hasta ve sigara kullanan fakat KOAH dahil herhangi bir hastalığı olmayan 55 erkek sağlıklı olgu dahil edildi. Klinik olarak tüm hastalar detaylı bir şekilde genel fizik muayeneden geçirildi. Tüm hastalarda KOAH tanısı; anamnez, genel fizik muayene ve solunum fonksiyon testi uygulanarak kondu ve hastalar spirometri ölçümü sonrası FEV1 değerlerine göre Evre 1, 2, 3 ve 4 (GOLD) olmak üzere 4 evreye ayrıldı. Sağlıklı kontrol grubunda da yine aynı yolla KOAH ve diğer hastalıkların varlığı dışlandı.

Çalışma kontrollü, prospektif olarak planlandı ve Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayı alındı. Koroner arter hastalığı, diyabetes mellitus, kontrolsüz hipertansiyon, kalp yetmezliği, kronik böbrek ve karaciğer yetmezlikleri olan, romatolojik hastalık ve malignitesi olan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

Tüm olgulardan bilgileri dahilinde vakumlu tüplere 5 cc kan örnekleri alındı. Alınan venöz kanlar Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Biyokimya Laboratuvarında 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildikten sonra Total Antioksidan Seviye (TAS), Total Oksidan Seviye (TOS) ve Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) ile prolidaz enzim düzeyi çalışılmak amacıyla serumlar -80°C'de depolanarak muhafaza edildi. Çalışma yapılacağı zaman tüm serum örnekleri çözülerek oda ısısına getirildikten sonra biyokimya laboratuvarında manuel olarak modifiye optimize Chinard metodu ile prolidaz enzim düzeyleri ve Abbot Aeroset marka oto analizör cihazında Erel metodu ile Total Oksidan Seviye (TOS), Total Antioksidan Seviye (TAS) parametreleri çalışıldı.

3.1. Total Antioksidan Seviye (TAS)

Total antioksidan seviye Erel yöntemi ile ölçüldü (183). Bu ölçüm yönteminde 2,2'-azinobis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid radikali (ABTS radikali) kullanılmaktadır. ABTS radikali, antioksidan konsantrasyonuna ve antioksidan kapasiteye göre mavi ve yeşil rengini kaybetmektedir. Bu renk değişikliği, absorbans değeri 660 nm'de ölçülerek değerlendirme yapılmaktadır. Bu ölçüm metodunun prensibi hidrojen peroksit varlığında ABTS molekülünün ABTS+ molekülüne okside olmasına dayanmaktadır. 30 mmol/L asetat tamponu ve pH: 3,6'da koyu yeşil renkte olan radikalın, asetat tamponu 0,4 mol/L, pH: 5,8 olduğunda rengi açılmaktadır. Renk değişimi ile örnek içindeki antioksidan miktarı arasında

ters ilişki bulunmaktadır. Reaksiyon hızı standart yöntem olan Trolox ile kalibre edilmektedir. Birimi Trolox equivalent/L'dir.

3.1.1. Reaktiflerin hazırlanması

Reaktif 1: 32,8 gr CH₃COONa'nın 1000 ml distile su içinde eritilmesi ile 0,4 mol/L asetat tampon solüsyonu (pH: 5,8 olacak şekilde) oluşturuldu. 22,8 ml asetik asit, 1000 ml su ile seyreltilerek, 0,4 mol/L konsantrasyona getirildi. 940 ml sodyum asetat solüsyonu ile 60 ml asetik asit solüsyonu karıştırıldı.

Reaktif 2: 2,46 gr CH₃COONa, 1000 ml distile suda eritilerek 30 mmol/L asetat tampon solüsyonu (pH: 3,6) hazırlandı. 1,705 ml asetik asit 1000 ml distile su ile seyreltilerek, 30 mmol/L konsantrasyonda karışım elde edildi. 75 ml sodyum asetat solüsyonu, 925 ml asetik asit solüsyonu ile karıştırıldı. pH:3,6 olacak şekilde ayarlandı. Sonra 278 µl H₂O₂ solüsyonu, 1000 ml tampon solüsyonu ile seyreltilerek 2 mmol/L konsantrasyona getirildi. Daha sonra 0,549 gr ABTS radikali, 100 ml hazırlanan solüsyonda eritilerek 10 mmol/L konsantrasyona getirildi. Bir saat oda ısısında bekletildi ve karakteristik ABTS renginin oluşması sağlandı. Spektrofotometrik ayarlardan sonra Aeroset otomatik analizatöre (Abott Aeroset® C8000™ cihazına) uygulandı.

Ölçüm formatı aşağıda verilmiştir:

1. reaktif volümü: 200 µl (asetat tamponu 0,4 mmol/L, pH 5,8)

Örnek volümü: 5 µl (serum ya da diğer sıvılar, saf antioksidan solüsyonu)

2. reaktif volümü: 20 µl (2. radikal: 30 mmol/L, pH 3,6 içinde ABTS)

Dalga boyu :660 nm (ya da 420 ve 740 nm aralığı) Değerlendirme: İlk ölçüm R1 ile R2

karışımı anında ve son ölçüm karıştırılmadan 5 dakika sonra Kalibrasyon şekli :Doğrusal

3.2. Total Oksidan Seviye (TOS)

Erel tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir.

3.2.1. Reaktiflerin hazırlanması

Reaktif 1: 140 mM'lık NaCl çözeltisi içerisine 25 mM H₂SO₄ çözülerek ana solüsyon hazırlanır. Ana solüsyonda önce % 10 oranında gliserol çözülüp daha sonra total volümde 250 µM Xylenol orange çözülerek hazırlanır.

Reaktif 2: Ana solüsyon içerisinde önce 10 mM o-dianisidine dihidrochloride çözülüp sonra 5 mM amonyum ferröz sülfat çözülerek reaktif hazırlanır.

Prensip: Örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferrik iyon oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xlenol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir. Birim $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent / L'dir.

3.3. Oksidatif Stres İndeksi (OSI)

Oksidatif Stres İndeksi (OSI); Total Oksidan Seviye (TOS) / Total Antioksidan Seviye (TAS) şeklinde bölünerek hesaplandı. Birim AU'dır.

3.4. Prolidaz Aktivitesi

3.4.1. Kullanılan araç ve gereçler

- 1- Santrifüj (Hettich Universal 30 RF)
- 2- Spektrofluorometre (Shimadzu RF-1501 MODEL, Japon)
- 3- Derin dondurucu (New Brunswick Scientifi, C54285 model)
- 4- Hassas terazi (Sartorius marka 0,0001 g'a duyarlı)
- 5- Dijital pH-metre (Hanna, pH 211 model Japon)
- 6- Otomatik biyokimya analizörü (Aeroset, USA)
- 7- Vorteks (DCA-VF-2)
- 8- Visible spektrofotometre (Jasco V-530 UV/VĐ3 Spektrofotometre)
- 9- Su banyosu (Nüve BM 402)

3.4.2. Kullanılan kimyasallar

Tablo-VIII. Çalışmalar Sırasında Kullanılan Kimyasal Maddeler

Madde Adı	Formülü	Firma ve Katalog No
L-Prolin	C ₅ H ₂ N ₂ O ₂	SigmaR
Glisil-Prolin	C ₇ H ₂ N ₂ O ₃	SigmaR
Magnezyum klorür	MgCl ₂ ·6H ₂ O	Riedel R
Glasiyel asetik asit	CH ₃ COOH	MerckR
Ortofosforik asit	H ₃ PO ₄	MerckR
Trizma HCl	C ₄ H ₁₁ NO ₃ HCl	SigmaR
Trizma BASE	C ₄ H ₁₁ NO ₃	SigmaR
Ninhidrin	C ₉ H ₆ O ₄	SigmaR
Manganklorür (II) hidrat	MnCl ₂ ·2H ₂ O	MerckR
Glutasyon	GSH	MerckR
Sülfürik asit	H ₂ SO ₄	MerckR
Sodyum klorür	NaCl	MerckR
O-Dianisidin dihidroklorid	C ₁₄ H ₁₆ N ₂ O ₂ ·2HCl	SigmaR
Hidroklorik asit	HCl	MerckR
Ferroz amonyum sülfat	Fe(NH ₄) ₂ (SO ₄) ₂ ·6H ₂ O	MerckR
Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂	MerckR
Xylenol orange	C ₃₁ H ₃₂ N ₂ O ₁₃ S	SigmaR
Gliserol	CH ₂ OHCHOHCH ₂ OH	MerckR

3.4.3. Kullanılan Ayraçlar

Ön inkübasyon çözeltisi : pH:7'de, 50 mmol/L Tris HCl tamponu içerisinde, 1 mmol/L GSH (glutatyon), 50 mmol/L MnCl₂ çözdürüldü.

1. Substrat çözeltisi: Ön inkübasyon çözeltisi içerisinde 144 mmol/L glisil-L-prolindipeptidi çözdürüldü. Ancak substrat çözeltisi için pH:7.8 lik Tris HCl tampon kullanıldı.

2. Tepkimeyi durdurma çözeltisi : 1 mL glasiyal asetik asit kullanıldı.

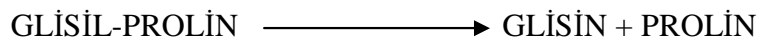
3. Ninhidrin çözeltisi (Modifiye (Optimize) Chinard Çözeltisi) : 0.5 mol/L'lik ortofosforik asitV içerisinde 3 g/dL olacak şekilde ninhidrin manyetik karıştırıcı ve ısı yadımıyla 70 °C'de eritildi.

4. Prolin standartı : 5 mg L-prolin bir miktar deiyonize su içerisinde çözdürülüp son hacmi 100 mL ye tamamlandı.

3.4.4. Ölçüm yöntemi (Modifiye = Optimize Chinard Metodu)

Substrat olarak glisil-prolin kullanılarak enzim aracılığı ile oluşan prolinin asidik ortamda ısı etkisiyle ninhidrin ile renkli bir bileşik (pembe renk) oluşturma ilkesine dayanarak serum prolidaz düzeyi ölçülür. Rengin şiddeti prolin konsantrasyonuna bağlıdır ve spektrofotometrik olarak ölçülür.

PROLİDAZ



Deney 3 basamaktan oluşur:

1. Enzim aktivasyonu için; numunenin Tris-HCl MnCl₂ ile preinkübasyonu

2. Örnek ile glisil - prolinin inkübasyonu

3. Serbestleşen prolinin spektrofotometrik olarak modifiye (optimize) chinard metodu ile ölçülmesi.

İşlem

a-) Yöntemde, 100 uL serum ile 100 uL serum fizyolojik karıştırılıp bu karışımdan 25 uL alınıp, 1 mmol/L GSH ve 50 mmol/L MnCl₂; pH 7 'de 50 mmol/L Tris HCl tampondan oluşan ön inkübasyon solüsyonundan 75 uL alınarak, 37 °C' de 30 dakika inkübe edildi.

b-) Karışımın üzerine 144 mmol/L Gly-pro içeren ön inkübasyon çözeltisinden (pH 7.8) 100 uL eklenerek 37 °C' de 5 dakika inkübe edildi.

c-) Daha sonra inkübasyonlu ve inkübasyonsuz (sıfır zaman) olacak şekilde iki grup tüp hazırlandı. İnkübasyonlu tüplere inkübasyonun sonunda 1mL glasiyal asetik asit ilave edilerek reaksiyon durduruldu. Sıfır zaman tüplerine ise aynı hacimde preinkübe edilmiş örnek eklenerek 1mL glasiyal asetik asit ilave edilip reaksiyon durduruldu.

Ayıracılar	İnkübasyonlu	inkübasyonsuz
Serum Fizyolojik (uL)	100	100
Ön inkübasyon çözeltisi	75	75
Substrat (uL)	100	100
Glasiyal asetik asit (mL)	1	1

d-) İnkübasyonlu ve inkübasyonsuz (sıfır zaman) tüplerin üzerine 300uL Tris HCl tamponu (pH:7.8) ve 1 mL Ninhidrin çözeltisi eklendi.

Ayıracılar	Kör	Standart	İnkübasyonlu	İnkübasyonsuz
Ön işlemden geçen çözelti toplam hacmi (mL)			1,2	1,2
Glasiyal asetik asit (ml)	1	1	1	1
Tris HCL pH 7.8 (uL)	300	300	300	300
Ninhidrin çözeltisi (modifiye (optimize) chinard çözeltisi) (mL)	1	1	1	1
Standart		1		

e-) Yukarıdaki işlemler uygulandıktan sonra tüplerin ağzı kapatılarak, 90 °C' de su banyosunda 20 dakika bekletildi. Daha sonra buzlu su banyosunda soğutulup beklenmeden 515 nm'deki absorbanlar substratın katılmadığı örnek körüne karşı okutuldu. Ölçülen prolin derişimleri standart olarak kullanılan 5 mg/dL'lik L prolin ile karşılaştırılarak hesaplandı.

3.4.5. Prolidaz Aktivitesinin Hesaplanması

Prolidaz aktivite düzeyi : $(A-B) \times [S] \times \text{Faktör:S}$

A: İnkübasyon tüpü absorban değeri

B: Sıfır zaman tüpü absorban değeri (inkübasyonsuz)

[S] : Standart konsantrasyonu (mmol/L)

S: Standart absorban değeri

Prolidaz aktivite düzeyi : $(A-B) \times [S] \times \text{Faktör} : 1$ litrede 1 dakikada oluşan S mmol prolin miktarı

Serumda aktivite tanımı : 1µmol substratı 1 dakikada değışikliğe uğratan enzim miktarı olarak yapılmıştır. Birim U/L olarak tanımlanmıştır.

3.5. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS Versiyon 11.5 (Statistical Package for the Social Sciences) bilgisayar programı kullanılarak gerçekleştirildi. Grupların ortalamaları arasındaki farkın önemi One-Way ANOVA testi ile karşılaştırıldı. Ayrıca parametreler arası korelasyon Pearson korelasyon testi ile incelendi.

4. BULGULAR

4.1. Demografik Özellikler

Çalışmaya, yaş ortalaması 65.55 ± 10.28 olan 55 KOAH'lı hasta, bunlardan spirometrik ölçüm ile FEV1 değerlerine göre evrelendirilmiş Evre 1 KOAH olanların yaş ortalaması: 63.50 ± 12.39 , Evre 2 KOAH olanların yaş ortalaması: 66.90 ± 11.10 , Evre 3 KOAH olanların yaş ortalaması: 64.77 ± 10.42 ve Evre 4 KOAH hastalarının yaş ortalaması 67.06 ± 7.22 idi. Yaş ortalaması 64.63 ± 8.18 olan 55 sağlıklı kontrol grubu da dahil olmak üzere toplam 110 kişi çalışmaya alındı. Aşağıdaki tabloda görüldüğü üzere, sigara içimi (paket/yıl), yaş ve BMI (body mass index: vücut kitle indeksi) açısından da gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. ($p > 0.05$)

Tablo-IX. Grupların Demografik Özellikleri

	Kontrol	Evre 1	Evre 2	Evre 3	Evre 4	P
YAŞ	64.63 ± 8.18	63.50 ± 12.39	66.90 ± 11.10	64.77 ± 10.42	67.06 ± 7.22	0.805
SİGARA (Paket/Yıl)	67.98 ± 21.06	68.70 ± 21.45	76.72 ± 6.98	78.77 ± 20.24	77.39 ± 11.22	0.139
BMI (Kg/m²)	25.76 ± 5.40	25.40 ± 4.70	23.27 ± 4.05	23.22 ± 4.78	24.18 ± 1.72	0.217

Tablo-X. Grupların TAS, TOS, OSI ve Prolidaz Sonuçları

	Hasta (n=55)	Kontrol (n=55)	P
TAS (mmol Trolox equiv/L)	0.86 ± 0.20	0.88 ± 0.14	0.593
TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ equiv/L)	12.25 ± 3.67	8.69 ± 2.82	<0.001
OSI	1.48 ± 0.53	1.00 ± 0.33	<0.001

(Arbitrary unit)			
PROLİDAZ (U/L)	837.83 ± 173.88	1000.39± 188.94	<0.001

*Sonuçlar ortalama± standart sapma olarak verilmiştir.

Tablo- XI. Evrelerine göre TAS TOS OSI ve Prolidaz Değerleri

	TAS (mmol Trolox equiv/L)	TOS (µmol H ₂ O ₂ equiv/L)	OSI (Arbitrary unit)	PROLİDAZ (U/L)
Kontrol	0.88±0.14	8.69±2.82 ^{a***b**c*d***}	1.00±0.33 ^{a***b**c*d***}	1000.39±188.94 ^{b**c***d***}
Evre 1	0.88±0.21	13.23±3.98	1.59±0.55	997.03±130.11 ^{e*f*g**}
Evre 2	0.85±0.21	12.08±2.79	1.47±0.39	837.46±197.72
Evre 3	0.85±0.22	11.04±3.39	1.38±0.61	818.59±166.48
Evre 4	0.87±0.19	13.12±4.18	1.54±0.54	760.22±132.11
P	0.973	<0.001	<0.001	<0.001

- a. Kontrol grubu ile Evre 1 arasında fark vardır.
- b. Kontrol grubu ile Evre 2 arasında fark vardır.
- c. Kontrol grubu ile Evre 3 arasında fark vardır.
- d. Kontrol grubu ile Evre 4 arasında fark vardır.
- e. Evre 1 ile Evre 2 arasında fark vardır.
- f. Evre 1 ile Evre 3 arasında fark vardır.
- g. Evre 1 ile Evre 4 arasında fark vardır.
- h. Evre 2 ile Evre 3 arasında fark vardır.
- i. Evre 2 ile Evre 4 arasında fark vardır.
- j. Evre 3 ile Evre 4 arasında fark vardır.

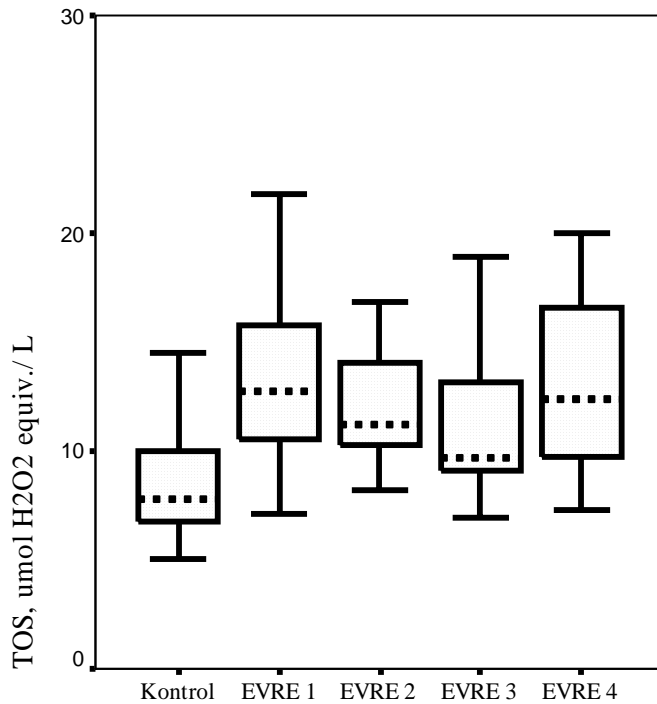
***: $p \leq 0.001$

** : $p \leq 0.01$

* : $p \leq 0.05$

4.2. Total Oksidatif Stres (TOS) Sonuçları

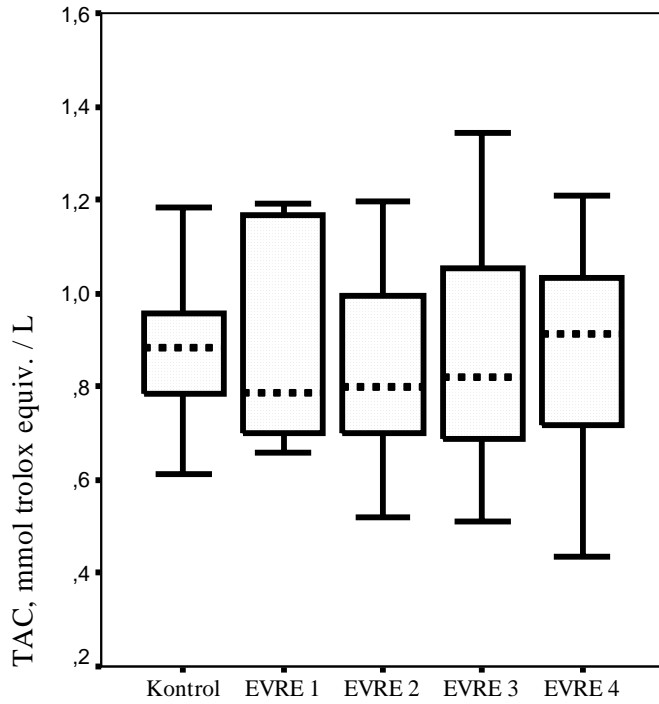
KOAH'lı hastaların ortalama TOS değerleri $12.25 \pm 3.67 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eqv/L}$ iken, kontrol grubunda $8.69 \pm 2.82 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Eqv/L}$ olarak tespit edildi. KOAH'lı hastaların ortalama TOS değerinin kontrol grubuna göre belirgin yüksek bulunması istatistiki olarak anlamlı idi ($p < 0.001$). Evre 1 KOAH hastalarında TOS değeri 13.23 ± 3.98 , Evre 2 hasta grubunda 12.08 ± 2.79 , Evre 3 hasta grubunda 11.04 ± 3.39 ve Evre 4 KOAH hastalarında 13.12 ± 4.18 olarak bulundu. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında evre 1 ve 4 KOAH hasta grubundaki TOS değerleri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p \leq 0.001$). Benzer şekilde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; Evre 2 ve 3 KOAH hasta grubundaki TOS değerleri de istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p \leq 0.01$). Fakat KOAH hasta grubundaki Evre 1, 2, 3 ve 4 olmak üzere karşılaştırılan evrelerin birbirleri arasında TOS değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.05$).



Grafik-1: Serum Toplam Oksidan Seviye düzeylerinin, kontrol grubu ve KOAH grubu evreleri arasındaki ortalama, standart sapma ve dağılımları.

4.3. Total Antioksidan Seviye (TAS) Sonuçları

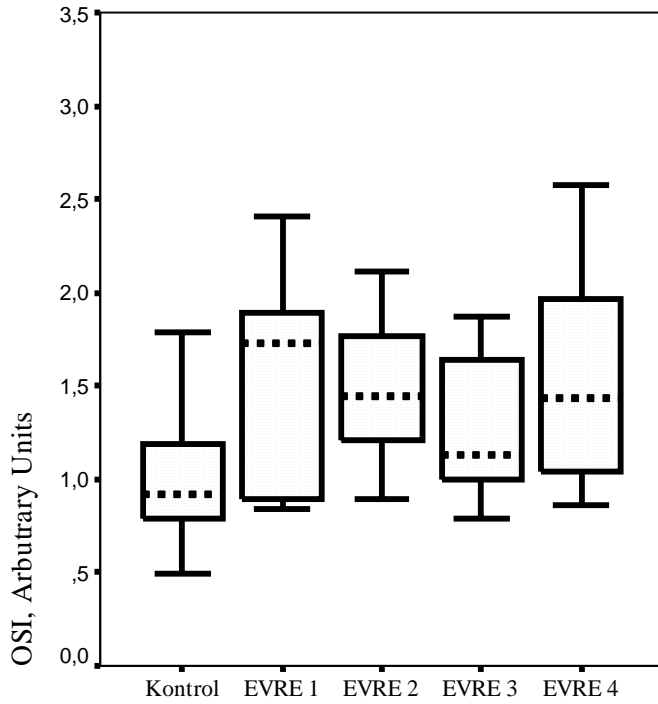
Ortalama TAS düzeyi kontrol grubunda 0.88 ± 0.14 $\mu\text{mol Trolox Eqv/L}$, KOAH'lı hasta grubunda 0.86 ± 0.20 $\mu\text{mol Trolox Eqv/L}$ olarak bulundu ve her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. ($p > 0.05$) Evre 1 KOAH'lı hasta grubunda 0.88 ± 0.21 , Evre 2 hasta grubunda 0.85 ± 0.21 , Evre 3 hasta grubunda 0.85 ± 0.22 , Evre 4 hasta grubunda 0.87 ± 0.19 olup hastaların tüm evrelerindeki TAS değeri ile kontrol grubu ve evrelerin birbirleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p > 0.05$).



Grafik-2: Serum Toplam Antioksidan Seviye düzeylerinin, kontrol grubu ve KOAH grubu evreleri arasındaki ortalama, standart sapma ve dağılımları

4.4. Oksidatif Stres İndeksi (OSI) Sonuçları

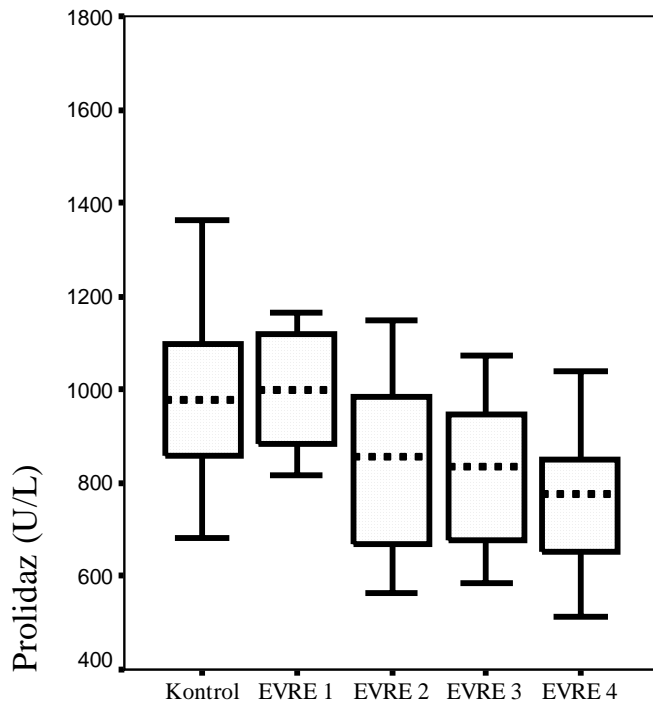
TOS/TAS oranı göz önüne alınarak grupların oksidatif stres indeksi hesaplandı. Buna göre OSI değeri tüm KOAH'lı hastalarda 1.48 ± 0.53 AU, Evre 1 hasta grubunda 1.59 ± 0.55 , Evre 2 hasta grubunda 1.47 ± 0.39 , Evre 3 hasta grubunda 1.38 ± 0.61 , Evre 4 hasta grubunda 1.54 ± 0.54 ve kontrol grubunda 1.00 ± 0.33 AU olarak bulundu. Evre 1 ve 4 KOAH hastalarında OSI değeri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p < 0.001$). Evre 2 ve 3 KOAH'lı hastaların da OSI değeri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı yüksekti ($p < 0.01$). Evre 1, 2, 3 ve 4 hasta grupları arasındaki fark ise istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0.05$).



Grafik-3: Serum Oksidatif Stres İndeksi düzeylerinin, kontrol grubu ve KOAH grubu evreleri arasındaki ortalama, standart sapma ve dağılımları

4.5. Prolidaz Sonuçları

Ortalama prolidaz değerleri KOAH'lı hastalarda 837.83 ± 173.88 U/L, Evre 1 hasta grubunda 997.03 ± 130.11 U/L, Evre 2 hasta grubunda 837.46 ± 197.72 U/L, Evre 3 hasta grubunda 818.59 ± 166.48 U/L, Evre 4 hasta grubunda 760.22 ± 132.11 U/L olarak bulundu. Kontrol grubunda 1000.39 ± 188.94 U/L olarak bulundu. Buna göre ortalama prolidaz düzeyi de en yüksek kontrol grubunda olup KOAH'lı hasta gruplarının evresi ile prolidaz düzeyi ters orantılı olarak değişiyordu ve en düşük düzeyler Evre 4 KOAH hastalarında bulundu. Evre 3 ve 4 KOAH'lı hastaların ortalama prolidaz aktivitesi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşüktü ($p < 0.001$). Evre 2 KOAH'lı hastaların prolidaz aktivitesi kontrol grubundan daha düşük olup istatistiksel olarak anlamlı idi ($p \leq 0.01$). Evre 1 ile Evre 4 KOAH'lı hasta grupları arasındaki ortalama prolidaz aktivitesi istatistiksel olarak anlamlı oranda farklı bulundu ($p \leq 0.01$). Evre 1 ile Evre 2 ve Evre 3 KOAH'lı hasta grubundaki prolidaz aktivitesi açısından aradaki farklar istatistiksel olarak anlamlıydı ($p \leq 0.05$). Diğer evrelerin kendi arasında ortalama serum prolidaz aktivitesi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p > 0.05$).



Grafik-4: Prolidaz enzim aktivitesinin, kontrol grubu ve KOAH grubu evreleri arasındaki ortalama, standart sapma ve dağılımları

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

KOAH genellikle ilerleyici olan ve kollagen metabolizmasında bozukluğa sebep olan hava yollarının kronik enflamatuvar bozukluğunun bir sonucudur. KOAH'ın patogenezinde ve prognozunda oksidan mekanizmaların, proteaz ve antiproteaz mekanizmaların etkisinin yanında kollagen metabolizmasındaki bozuklukların etkisi önemlidir. KOAH'ın çok önemli bir kısmının etyolojisinde yeri olan sigara dumanı harap olmuş elastin ve kollagenin tamirinde rol alan bir enzim olan lizil oksidaz düzeyini düşürür (184).

Başta sigara olmak üzere, zararlı toz ve partiküllerin inhalasyonu, hava yolu epitel hücrelerini ve makrofajları uyarmaktadır. Aktive makrofajlar, epiteloid hücreler ve CD8(+) T lenfositlerden hava yollarına nötrofil kemotaksik faktörler salınmasına yol açmaktadır (39). Nötrofiller, makrofajlar ve/veya monositler lipid-protein oksidasyonu ve bir de komşu hücrelerde oksidatif DNA hasarına sebep olan serbest oksijen radikallerini üretir.

Oksidatif stres; vücudumuzda mevcut oksidatif-antioksidatif dengenin oksidanlar lehine bozulması sonucu meydana gelen patolojik durumdur. Oksidatif stresin toplam değeri; total oksidatif status/seviye (TOS) olarak ifade edilir. Bu fenomen, aşırı reaktif oksijen ve/veya nitrojen türlerinin üretimi veya antioksidan tampon mekanizmasının eksikliği sonucu oluşur. Artmış oksidatif stres KOAH patogenezinde önemli role sahiptir. KOAH ROS üretimi ve akciğerde oksidatif strese yol açan artmış nitrik oksit düzeyleri ile ilişkilidir (185-191).

Oksidatif olaylar sonucu oluşan reaktif oksijen ve nitrojen ürünleri oldukça toksiktir ve hücrenin lipid, protein ve DNA (Deoksiribonükleik asit) gibi biyomoleküllerine zarar verir. ROS tarafından provoke edilen DNA hasarları potansiyel kanserojen gen modifikasyonlarına yol açan çok tehlikeli sonuçlar doğurabilir. Damar endoteli de bu durumdan kısmen etkilenmektedir. Normal koşullarda organizma, endojen ve eksojen serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan savunma sistemine sahiptir ve bu total antioksidan kapasite veya seviye (TAK, TAS) parametreleri ile tespit edilebilir.

Oksidatif stres seviyesi süperoksit anyonlarını (O_2^-), indirgeyen süperoksit dismutaz (SOD) gibi enzimatik antioksidanları da içeren endojen antioksidan sistemler tarafından

düzenlenir. Katalaz ve glutatyon peroksidaz (GPx) her ikisi de hidrojen peroksiti (H₂O₂) detoksifiye eder. Glutatyon (GSH) redoks sistem, müsin, bilirubin, seruloplazmin, transferrin ve albumin gibi non-enzimatik antioksidanlar ile A (beta-karoten), C (askorbik asit), E (alfa-tokoferol) vitaminleri gibi ROS-aracılı serbest radikalleri inaktive eden özellikleri ile hücrel hasara karşı koruyacak olan eksojen antioksidanlar da vardır (189,191).

Total antioksidan durumun ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgiler verebilir. Bu yüzden kanın antioksidatif durumunu saptamada bireysel antioksidanlardan ziyade bunların toplam antioksidan değerini veren toplam antioksidan kapasite ölçümü yaygınlaşmaktadır. Çalışmamızda, Erel tarafından son yıllarda geliştirilen, birçok çalışmada pratik ve güvenilir yöntemler olduğu gösterilmiş olan total oksidan/antioksidan seviye ölçüm yöntemlerini kullanmayı uygun gördük. Bu yöntemle total -SH, vitamin C, ürik asit, vitamin E, bilirubin ve diğer birçok antioksidanın hassas bir şekilde ölçüldüğü total antioksidan seviye ile plazmada bulunan hidroksil (OH[•]), hidrojen peroksit (H₂O₂), singlet oksijen (O₂^{↑↓}), lipid hidroperoksit (LOOH), süperoksit (O₂^{•-}) gibi serbest radikallerin sebep olduğu oksidatif stresi ölçmek mümkündür (192,193).

KOAH başta olmak üzere birçok akciğer ve akciğer dışı hastalıkta oksidatif stresin arttığını gösteren çalışmalar vardır. Bununla birlikte KOAH'da antioksidan kapasitenin azalmış olabileceği tahmin edilmektedir. Bununla ilgili bazı akciğer hastalıklarında oksidatif stres ile ilgili parametrelerin sağlıklı bireylere göre anlamlı derecede yüksek olduğu gösterilmiştir (194,195).

Son yıllarda oksidatif stres ve kollagen metabolizması üzerinde yoğunlaşan bazı çalışmalar, artmış oksidatif stresin bağ doku ve kıkırdak doku gibi tüm organlar ve vücudun tüm sistemleri üzerine destek görevi gören çevre dokuda, yaşlanmanın hızlanması ve proteoglikanların ve kollagen gibi destek dokunun esas elamanlarının yıkıma uğraması gibi bir takım dejeneratif değişiklikler ortaya çıkardığını göstermiştir.

Çeşitli oksidan ve antioksidanların KOAH'ın inflamatuvar süreçte patogeneze dahil olması muhtemel olduğu için biz antioksidatif statünün bu durumdan ne kadar çok etkilendiğini görmek amacıyla TAS'ı araştırmayı denedik. Antioksidan savunmadaki değişiklikler defansif yanıtı bağı olarak artış veya oksidanlar tarafından nötralizasyona bağı olarak azalış şeklinde olabilir. Eğer rezervler yeterli ise herhangi bir değişiklik olmayabilir. Çalışmamızda da KOAH'lı hastalarda hastaların tüm evrelerindeki TAS değeri ile kontrol

grubu ve evrelerin birbirleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p>0.05$).

Gencer ve arkadaşlarının yaptığı KOAH'da oksidatif-antioksidatif stres korelasyonu ve prolidaz aktivite disregülasyonu isimli çalışmada TAS, LPO (Lipid peroksit) ve prolidaz aktivitesine bakılmış ve sonuç olarak KOAH'lı hastalarda TAS seviyesinin düştüğü bulunmuş ve burada muhtemelen antioksidanları tüketen bir oksidatif hasar mevcuttur. Bu hastalarda oksidatif stres varlığını doğrulayan çok yüksek miktarda LPO kaydedilmiştir. Sağlıklı vakalarda ROS üretimi düşük olduğunda plazma içinde var olan çeşitli antioksidanların kombine aktiviteleri tarafından LPO inhibe edilir. Ancak aşırı ROS üretimi olayında çalışmada hipotez olarak LPO artışı olarak bu koruma belki de devam eden oksidatif yüke karşı organizmanın yetersiz bir yanıtı olabilir. Ayrıca çalışmada KOAH'lı hastalarda LPO ve TAS seviyeleri arasında anlamlı bir negatif korelasyon tespit edilmiştir. Pro-oksidatif faktör seviyelerinin artışı ciddi oksidatif stres ile pulmoner epiteldeki birçok süreci modüle etmektedir (196).

Daha evvel yapılmış çalışmalardan; akciğer kist hidatik operasyonlarında sevofluran ve desfluran anestezilerinin oksidatif stres parametreleri ve prolidaz enzim aktivitesi üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmanın sonuçlarına göre TOS, OSI ve prolidaz değerleri kist hidatikli hastalarda yüksek bulunurken, TAS değeri kontrol grubuna göre düşük bulundu. Çalışmanın bulgularında da TAS'ın hasta grubunda düşük, TOS ve OSI'nin yüksek çıkması da bu hastaların kronik oksidatif strese maruz kaldıklarını ve antioksidan savunma mekanizmalarının da olumsuz etkilendiğini göstermektedir (197).

Kollagenin metabolik döngüsünde spesifik bir enzim olduğu için prolidazın önemi büyüktür. Kollagenin yıkımında ve prolinin kollagen yapımı döngüsüne yeniden katılımında prolidaz aktif görev almaktadır. Prolidaz kollagen yapısındaki prolinin glisil ile yaptığı peptid bağını yıkan tek enzim olmasından dolayı prolidaz aktivitesinin kollagen turnover hızı ile direkt olarak ilişkili olmasını bekleriz (146). Daha önceki çalışmalarda serum prolidaz aktivitesinin karaciğer sirozunda ve hasarında arttığı bildirilmiştir (198).

Literatürde prolidaz enzim aktivitesi ile TOS, TAS ve OSI'nin akciğer dışı pek çok hastalıkta birlikte değerlendirildiği bir dizi çalışma vardır (164,165,199-202). Prolidaz aktivitesinin kronik üremi (203,204) ve tip II diabet (205) durumlarında azaldığı gösterilmiştir. Aksoy ve arkadaşları diyabette azalmış prolidaz aktivitesini diyabetin vasküler

komplikasyonlarına bağlamışlardır (164). Bununla birlikte kronik karaciğer hastalıklarında prolidaz aktivitesi artışı raporlanmıştır (198). Normal serum prolidaz değeri 1000 U/L'nin altındadır. 1500 U/L'yi aşan değerler kronik karaciğer hastalıklarında görülür. Çelik ve arkadaşları siroz hastalarında serum prolidaz seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunduğunu ve kollagen turnover'ının insan karaciğerinde sirozun gelişimiyle değiştiğini ve prolidaz aktivitesinin bu dejeneratif karaciğer hastalığında kollagen metabolizmasının bozukluklarını yansıtabileceğini ortaya koydular (165). Myara ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada ise serum prolidaz aktivitesinin karaciğer sirozunda arttığı bildirilmiştir (153).

Chamson ve arkadaşları prolidaz eksikliği olan hastalarda iminodipeptidüri olduğunu göstermiştir. Chamson ve grubu prolidaz eksikliğinde en önemli değişikliğin kollagen yıkımının hızla artması olduğunu saptamışlardır. Bu olayın gerçekte bağ dokusu hastalığının değil, kollagen biyosentezinin azalan prolin havuzu tarafından kısıtlanmasından kaynaklandığını düşünmektedir (206). Arata ve arkadaşları ile Powel ve arkadaşları prolidaz enziminin genetik eksikliğinin sonucunda mental gerilik, tekrarlayan infeksiyonlar ve deri lezyonları ile karakterize bir klinik tablonun ortaya çıktığını bildirmiştir (169,158).

Butterworth ve arkadaşları prolidaz eksikliği olan kişilerde prolidaz I aktivitesinin deri fibroblast kültürlerinde ve kan hücrelerinde azaldığını göstermiştir (170). Çakmak ve arkadaşları tarafından bronşiyal astımlı çocuklarda kayda değer prolidaz seviye düşüşü Chinard metodunun modifiye edilmiş bir versiyonu ile gösterilmiştir (207). Kaleli ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise bronşiyal astımda prolidaz aktivitesinin artmış olduğu, bunun respiratuvar bronşiyollerdeki submukozal hücrelerde gelişen inflamasyon ve fibrozise bağlı olduğu tespit edilmiştir (202).

Ayrıca Gencer ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da bu veriyi doğrulayacak biçimde azalmış kollagen geri dönüşümü için delil olarak yorumlanabilecek şekilde KOAH'lı hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı plazma prolidaz aktivitesi düşüklüğü tespit edilmiştir. Chinard metodunun protein-presipitasyon adımı elenmiş modifiye edilmiş şeklinin optimize edilmiş bir versiyonunun kullanıldığı ve yüksek prolidaz aktivitesi tespit edilmesi beklendiği halde hastalarda kontrol grubundan daha düşük enzim aktivitesi seviyesi bulunmuştur. Ayrıca TAS ve LPO seviyeleri ile prolidaz aktivitesi arasında anlamlı bir korelasyon bulunmuştur. Literatürde inceleyebildiğimiz kadarıyla, Gencer ve arkadaşlarının bu çalışması KOAH'lı hastalarda prolidaz enzim aktivitesi ile oksidan-antioksidan ilişkisini

araştıran ilk çalışmadır. Ancak azalmış prolidaz enzim aktivitesi nedeni yeterince açıklanamamıştır (196).

Çalışmamızda ortalama prolidaz düzeyi en yüksek olan kontrol grubu olup KOAH'lı hasta gruplarının evresi ile prolidaz düzeyleri ters orantılı olarak değişiyordu ve en düşük düzeyler evre 4 KOAH hastalarında bulundu. Evre 3 ve 4 KOAH'lı hastaların ortalama prolidaz aktivitesi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşüktü ($p<0.001$). Evre 2 KOAH'lı hastaların prolidaz aktivitesi kontrol grubundan daha düşük olup fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p\leq 0.01$). Evre 1 ile Evre 4 KOAH'lı hasta grupları arasındaki ortalama prolidaz aktivitesi istatistiksel olarak anlamlı oranda farklı bulundu ($p\leq 0,01$). Evre 1, Evre 2 ve Evre 3 KOAH'lı hasta grubundaki prolidaz aktivitesi de istatistiksel olarak anlamlıydı ($p\leq 0.05$). Diğer evrelerin kendi aralarında ortalama serum prolidaz aktivitesi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ($p>0.05$). Daha evvel yapılmış olan çalışmayla uyumlu olacak şekilde hasta grubumuzun prolidaz değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşüktü. En düşük değerler Evre 4 ve daha sonra artarak sırasıyla evre 3, 2, 1 ve kontrol gruplarında saptansa da yukarıda tariflenenin haricinde evreler arasında istatistiki olarak anlamlılık saptanmadı.

Söner ve arkadaşları kronik etanol ve selenyum verilen sıçanların karaciğerlerinde prolidaz I aktivitesini kontrollere oranla artmış olarak bulmuştur (166). Aynı şekilde CCI4 uygulanan sıçanların karaciğerlerinde prolidaz I aktivitesinin arttığı belirlenmiştir (208). İyidoğan ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda serum prolidaz aktivitesinin klinik laboratuvarlarda kemik yapım ve yıkımının bir göstergesi olabileceğini tespit etmişlerdir (209).

Altındağ ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada dizde osteoartriti olan hastalarda serum prolidaz aktivitesinin kontrol grubuna göre azalmış olduğu tespit edilmiştir (200). Buna karşın Zuyderhoulft ve arkadaşları yaptıkları çalışmada kemik hastalıklarında hiçbir zaman yüksek prolidaz değerine rastlanmadığını belirtmiştir (175).

Gürdöl ve arkadaşları ile Hui ve arkadaşları prolidaz aktivitesinin birçok dokuda ve amniyotik sıvıda bulunduğunu belirlemiştir (167,168). Oono ve arkadaşları kronik yara iyileşmesinde prolidaz enzim değerinin yaradan alınan sıvı örneklerinde ve blister oluşan hastalıklarda blister içi sıvı örneklerinde arttığını bildirmişlerdir (174).

Yıldız ve arkadaşları kronik yaralarda uygulanan hiperbarik oksijen tedavisinde (HBO2) ise serum ve doku örneklerinde, prolidaz enzim değerleri ölçüldüğünde tedavi sonrasında, tedavi öncesine göre azalma gözlenmiştir (210).

Demirbağ ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada sol ventriküler hipertrofi den bağımsız olarak hipertansiyon ile serum prolidaz aktivitesi arasında ilişki olduğu tespit edilmiştir (199). Ayrıca damarların duvarlarında özellikle media tabakasında, farklı tip damarlarda oranları değişmek üzere, kollagen fibriller bulunmaktadır. Yani damarlarımız büyük ölçüde kollagen doku içermektedir. Bu nedenle pek çok organ ve doku gibi damar sistemini de etkileyebilen mikroanjyopatik komplikasyonlara neden olabilen brusella gibi hastalık durumlarında, yapısal bir eleman olarak kollagen proteinin yapım-yıkım ve yeniden yapım döngüsünün de etkilenmesi beklenir.

Demirbağ ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada da kapak replasmanı yapılmış atrial fibrilasyonlu veya fibrilasyonsuz mitral stenozlu vakalarda plazma prolidaz değerindeki değişim incelenmiş ve atrial fibrilasyonlu hastalarda oksidatif stresin atriyal dokudaki hasara ve remodellinge katkıda bulunduğu ve prolidaz aktivitesinin düştüğü gösterilmiştir (199). Diğer bir çalışmada kardiyak hipertrofi hastalarda yapılmış olup sol ventrikül diyastolik disfonksiyonu ve artmış sol ventrikül kütlesi, hipertrofik sol ventrikülün interstisyel boşluğunda aşırı basınç yüklenmesine sekonder oluşan orantısız kollagen birikimine bağlanmış ve bu hasta grubunda prolidaz aktivitesinin istatistiksel olarak anlamlı ölçüde azaldığı tespit edilmiştir (211).

Altındağ ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, dizde osteoartriti olan hastalarda, serum prolidaz aktivitesinin kontrol grubuna göre azalmış olduğu, oksidatif stresin arttığı, TAS'ın ise azalmış olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada prolidaz aktivitesi, OSİ ile negatif korele, TAS ile pozitif korele bulunmuştur (200). Bu sonuç oksidatif stres ile ilişkili olarak kollagen metabolizmasının azalmış olabileceği şeklinde yorumlanmıştır.

Aslan ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada ise H.Pylori (+) olgularda H.Pylori (-) olgulara göre serum TAS seviyelerinin belirgin düşük, TOS seviyelerinin, OSİ değerlerinin ve prolidaz aktivitesinin belirgin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Prolidaz aktivitesinin, TOS'deki artışla ilişkili olduğu gösterilmiş ve bu H.Pylori (+) olgularda artmış oksidatif strese bağlı oluşan gastrik mukozal inflamasyonun, hücrelerde kollagen sentezini artırmasıyla ve gastrik fibrozise neden olmasıyla ilişkilendirilmiştir (201).

Erbağcı ve arkadaşları, osteoporozu olan diyabetik hastaların prolidaz aktivitesinin osteoporozu olmayan diyabetik gruba göre arttığını göstermişler ve prolidazın, diyabetik hastalardaki osteoporozun tespitinde iyi bir belirteç olabileceğini ileri sürmüşlerdir (205). Namıduru ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, postmenapozal osteoporozda serum polidaz aktivitesinin değişmediğini ve diğer kemik yapım ve yıkım göstergeleri ile ilişkili olmadığını belirtmişlerdir (212). Evrenkaya ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da, son dönem böbrek yetmezliğinde görülen yüksek ve düşük döngülü kemik hastalığının tespitinde prolidazın değerli olmadığı tespit edilmiştir (204).

Bu bulgular ışığında KOAH ve buna bağlı büyük ve periferik hava yolları ile akciğer parankimi ve vasküler yapıda meydana gelen çeşitli inflamatuvar değişiklikler sonucu goblet hücre hiperplazisi, mukus glandlarında artış, bronş duvarlarında kalınlaşma, intraluminal inflamatuvar eksuda, hava yollarında daralma, alveol duvar hasarı, endotel disfonksiyonu, peribronşiyal fibrozis ve hava yollarında daralma ile sonuçlanan pek çok fizyopatolojik süreç ve mekanizmanın eşlik ettiğini ve buna neden olan şiddetli bir oksidatif stresin mevcut olduğunu, bunun KOAH'ın hem etyopatogenezinde hem de progresyonunda rol oynadığını, dolayısıyla ciddi bir oksidatif hasarın ortaya çıktığını, bu hasardan en fazla etkilenen proteinlerden biri olan kollagenin hasarlandığını ve yıkımının artarak turnover'ının hızlanmış olduğunu ve bundan dolayı da parankimal destrüksiyon sonucu prolidaz enzim aktivitesinin artmış olduğunu bekleyebiliriz. Ancak daha astımlı çocuklarda prolidaz düzeylerinin düşük bulunduğu gibi çalışmamızda da prolidaz enzim aktivitesinde düşme tespit ettik. Bu sonuçlar kronik inflamatuvar hava yolu hastalıklarında kollojen metabolizmasının bozulduğunu bunun laboratuvarında bazen prolidaz artışı bazen de düşüklüğü şeklinde görülebildiğini göstermektedir.

Çalışmamızda KOAH'ı olan hastalarda oldukça yükselmiş olarak tespit ettiğimiz oksidatif stresin bu hastalarda ortaya çıkan hava yollarında kronik inflamasyon ve fibrozis ile bağ doku ve akciğer parankim dejenerasyonunda rol oynadığını ve buna bağlı olarak akciğer parankimini oluşturan destek ve bağ doku yapı taşlarından biri olan kollagen yıkımının hızlandığını ve dolayısıyla turnover hızının arttığını söyleyebilmemiz mümkün gözükmemektedir. Kollagen yıkımı ve yeniden yapımı (kollagen turnover) döngüsünde önemli bir gösterge olduğu bilinen prolidaz aktivitesinin de hasta grubumuzda oldukça düşük bulunması bu varsayımımızı oldukça güçlendirmektedir.

Prolidaz enzim aktivitesinin sağlıklı erişkinlerde büyük varyasyonlar göstermemesi prolidaz enziminin KOAH olan vakalarda kollagen doku hasarının değerlendirilmesi açısından kullanılabileceği ihtimalini göstermektedir. Ancak metodun otomatize olmaması, güvenilir fakat kolay uygulanabilir olmaması rutin bir parametre olarak henüz kullanılabilir olmadığını göstermektedir. Fakat bu zorlukların giderilmesi, özellikle de yöntemin tam otomatize edilmesi ile rutinde kullanılır hale getirilmesi sayesinde kan prolidaz aktivitesi, kollagen doku hasarının olduğu düşünülen hastalıklarda erken tanı ve takibe olanak sağlayacak güvenilir bir parametredir. Böylece bizim çalışmamıza konu olan KOAH ve parankimal destrüksiyon ile sonuçlanan kollagen ve bağ doku dejenerasyon sürecinin daha erken belirlenip kontrol altına alınabilmesi açısından uygulanabilir bir test olarak prolidaz enzim aktivitesinden faydalanılabileceğini düşünmekteyiz.

Ayrıca oksidatif stres belirteçlerini yüksek olarak tespit ettiğimiz bu hastalarda KOAH'da oksidatif stres ve hasarın da meydana geldiği literatürle uyumluluk göstermektedir. Oksidan maddelerin artması ve bunun yanında antioksidan kapasitenin azalması, hatta artan oksidanlara rağmen değişmemesi, kollagen doku hasarı oluşturarak akciğerlerde dejenerasyon gelişim sürecini hızlandırıp KOAH oluşumuna ve/veya ilerlemesine katkıda bulunabilir. Bundan dolayı, bu hastalarda antioksidan kapasitenin dışarıdan verilebilecek antioksidanlarla (vitamin A, C ve E gibi) destekleyici tedavi ile artırılmasının KOAH oluşum sürecinin yavaşlamasına ve kliniğin olumlu yönde daha da hafiflemesine neden olabileceği öngörülebilir ancak bunun için daha ileri çalışmalar kaçınılmazdır. Kronik inflamasyonun alt solunum yolu fibrozisi ile hava yollarında duvarlarda kalınlaşma ve kollagen metabolizmasında disregulasyona sebep olduğu raporlanmıştır.

KOAH'a eşlik eden oksidatif stres hücre ve doku hasarına sebep olur. Azalmış prolidaz aktivitesinin TOS ve OSİ ile negatif korelasyonu şunu akla getiriyor: Bu hasar sadece hücresel seviyede oluşmaz, bir de protein seviyesinde oluşur. Plazma prolidaz aktivitesi akciğerdeki kollagen doku metabolizması ve turnover bozukluklarını yansıtıyor olabilir. Özellikle hava yollarındaki fibrotik sürecin ilerlemesini desteklediğini varsayarsak hastalığın bir markeri olarak kullanılabilir. Fakat biz çalışmamızda incelediğimiz parametrelerden TAS, TOS, OSİ düzeyleri ve prolidaz enzim aktivitesi arasında KOAH'ın hastalık evreleriyle istatistiksel olarak anlamlılık tespit etmedik.

Sonuç olarak KOAH'da oksidatif stresin arttığı kollagen turnoverinin bozulduğu görülmektedir. Bozulan oksidan denge ve/veya prolidaz metabolizmasında bozukluk KOAH

etyopatogenezinde etkili olabileceği gibi KOAH daki fibrotik süreç ve inflamasyonla da ilişkili olabilir. KOAH'daki kronik inflamasyonun alt solunum yollarında duvar kalınlaşmasına ve kollagen metabolizmasında bozulmaya yol açtığı düşünülmektedir. KOAH da küçük hava yollarındaki fibrozis ve aolveollerdeki elastin kaybı temel patolojiler arasındadır. Özellikle çalışmamızda azalmış prolidaz aktivitesinin KOAH'ın evreleri arasında ilişki göstermesi çok önemli bir sonuçtur. Kollagen turnover ürünlerinin KOAH'ın ağırlığını saptamada yardımcı bir marker olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz. Daha önce astmatik çocuklarda saptanan çalışmaya benzer şekilde KOAH da tarafımızdan azalmış serum prolidaz düzeyleri saptanmıştır. Çalışmamız sonucunda gözlenen değişikliklerin altında yatan etyopatogenetik mekanizmaları özellikle KOAH evreleri ile karşılaştırmalı olarak açıklığa kavuşturmak için daha ileri çalışmalar yapılmalıdır. Daha detaylı ve ileri çalışmalarla bu sonucumuzun teyit edilmesi literatüre yaptığımız bu katkıyı daha da kesinleştirecektir.

6. KAYNAKLAR

- 1 Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global strategy for the diagnosis, management and prevention of chronic obstructive pulmonary disease 2009
- 2 Murray CJ, Lopez AD. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. Lancet 1997; 349:1498-1504.
- 3 Lopez AD, Shibuya K, Rao C, Mathers CD, Hansell AL, Held LS, Schmid V, Buist S. Chronic obstructive pulmonary disease: current burden and future projections. Eur Respir J 2006; 27: 397-412
- 4 O'Donnell DE. Hyperinflation, dyspnea and exercise intolerance in COPD. Proc Am Thorac Soc 2006; 3: 180-4
- 5 Pauwels R. A, Buist A. S, Calverley MA, et al. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease: Global strategy for diagnosis, management and prevention of Chronic Obstructive Pulmonary Disease updated 2009.
- 6 Polatlı M. KOAH: Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri. Eds. Özlü T. Metintaş M.Karadağ M. Kaya A. Solunum Sistemi ve Hastalıkları. Temel Başvuru Kitabı Cilt 1. İstanbul Tıp Kitabevi 2010; 1: 663-734.
- 7 Buist AS, McBurnie MA, Vollmer WM, et al. International variation in the prevalence of COPD (The BOLD Study): a population-based prevalence study. Lancet 2007; 370:741-50.
- 8 Chapman KR, Mannino DM, Soriano JB et al. Epidemiology and cost of chronic obstructive pulmonary disease. Eur Respir Journal 2006; 27: 188-207.
- 9 Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global strategy for the diagnosis, management and prevention of chronic obstructive pulmonary disease 2006
- 10 Kocabaş A. Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı Epidemiyolojisi ve Risk Faktörleri. Eds. Umut S, Erdiñç E. Tanımdan Tedaviye Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı. Türk Toraks Derneği Kitapları. Sayı 6. Galenos YayıncılıkSan. Tic. Ltd. Şti 2008; 10-22.
- 11 Toraks Derneği Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı Tanı ve Tedavi Rehberi. Toraks Dergisi 2000; Toraks Derneği Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı Tanı ve Tedavi Uzlaş Raporu. Türk Toraks Dergisi. Mayıs 2010

- 12 Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Başkanlığı Hıfzıssıhha Mektebi Müdürlüğü ve Başkent Üniversitesi. Ulusal 82 Hastalık Yüğü ve Maliyet Etkinlik Projesi. Hastalık Yüğü Final Rapor. Ankara, Türkiye, 2004.
- 13 Mannino DM, Homa DM, Akinbami LJ, Ford ES, Redd SC. Chronic obstructive pulmonary disease surveillance-United States 1971-2000. *MMWR Surveill Summ* 2002; 51: 1-16.
- 14 Laurell CB, Ericsson A. The electrophoretic alpha 1-globulin pattern of serum in alpha-1 antitrypsin deficiency. *Scand J Clin Lab Invest* 1963; 15: 132-40.
- 15 De Serres FJ. Alpha 1 antitrypsin deficiency is not a rare disease but a disease that is rarely diagnosed. *Environ Health Perspect* 2003; 111 (16):1851-4.
- 16 Molfino NA. Genetics of COPD. *Chest* 2004; 125: 1929-40.
- 17 Smolonska J, Wijmenga C, Postma DS, Boezen HM. Meta analyses on suspected chronic obstructive pulmonary disease genes. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 180: 618-31.
- 18 Molfino NA. Current thinking on genetics of chronic obstructive pulmonary disease. *Curr Opin Pulm Med* 2007; 13:107-13.
- 19 Fletcher C, Peto R. The natural history of chronic airflow obstruction. *BMJ* 1977; 1: 1645-8.
- 20 Menezes AM, Perez-Padilla P, Jardim JR, et al. Chronic obstructive pulmonary disease in five Latin American cities (the PLATİNO study): a prevalence study. *Lancet* 2005; 366:1875-81.
- 21 Gunen H, Hacıevliyagil SS, Yetkin O, et al . Prevalence of COPD: first epidemiological study of a large region in Turkey. *Eur J Intern Med* 2008; 19: 499-504.
- 22 Burrows B, Knudson RJ, Cline MG, Lebowitz MD. Quantitative relationships between cigarette smoking and ventilatory function. *Am Rev Respir Dis* 1977; 115; 195-205.
- 23 Jindal SK, Aggarwal AN, Chaudhry K, et al. A multicentric study on epidemiology of chronic obstructive pulmonary disease and its relationship with tobacco smoking and environmental tobacco smoke exposure. *Indian J Chest Dis Allied Sci* 2006; 48: 23-9.

- 24 Al-Fayez SF, Salleh M, Ardavi M, Azahran FM. Effects of sheesha and cigarette smoking on pulmonary functions of Saudi males and females. *Trop Geogr Med* 1988; 40: 115-23.
- 25 Xu X, Weiss ST, Rijcken B, Schouten JP. Smoking, changes in smoking habits, and rate of decline in FEV1: new insight into gender differences. *Eur Respir J* 1994; 7: 1056-61.
- 26 Silverman EK, Weiss ST, Drazen JM, et al. Gender-related differences in severe, early-onset chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 2152-8.
- 27 Global Adult Tobacco Survey Türkiye Sonuçları, 2009
- 28 Yin P, Jiang CQ, Cheng KK, et al. Passive smoking exposure and risk of COPD among adults in China: the Guangzhou Biobank Cohort Study. *Lancet* 2007; 370: 751-7.
- 29 Salvi SS, Barnes PJ. Chronic obstructive pulmonary disease in non-smokers. *Lancet* 2009; 374: 733-43.
- 30 Ekici A, Ekici M, Kurtipek E, et al. Obstructive airway diseases in women exposed to biomass smoke. *Environ Res* 2005; 99: 93-8.
- 31 Kiraz K, Kart L, Demir R, et al. Chronic pulmonary disease in rural women exposed to biomass fumes. *Clin Invest Med* 2003; 26: 243-8.
- 32 Regional COPD Working Group. COPD prevalence in 12-Asia-Pacific countries and regions: projections based on the COPD prevalence estimation model. *Respirology* 2003;8: 192-8.
- 33 Lopez AD, Mathers CD, Ezatti M. Global burden of disease and risk factors. Washington, DC: World Bank, 2006.
- 34 Grigg J. Particulate matter exposure in children: relevance to chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc* 2009; 6: 564-9.
- 35 Barker DJ, Godfrey KM, Fall C, et al. Relation of birth weight and childhood respiratory infection to adult lung function and death from chronic obstructive airways disease. *BMJ* 1991; 303: 671-5.

- 36 Pride N. Smoking, allergy and airways obstruction: revival of the “Dutch hypothesis”. *Clin Allergy* 1986; 16: 3-6.
- 37 Silva GE, Sherrill DL, Guerra S, Barbee RA. Asthma as a risk factor for COPD in a longitudinal study. *Chest* 2004; 126: 59-65.
- 38 Global strategy for the diagnosis, management and prevention of COPD NHLB/ WHO Workshop Report. Update 2004. Available from <http://www.goldcopd.org> 2003-2004.
- 39 Chung KF. Cytokines. In: Barnes PJ, Drazen JM, Rennard S, Thomson NC (eds), *Asthma and COPD: Basic mechanisms and clinical management*. London: Academic Press, 2002: 261-71
- 40 Janof A. Elastases and emphysema. Current assessment of the protease-antiprotease hypothesis. *Am Rev Respir Dis* 1985; 132: 417-33.
- 41 Shapiro SD. Proteinases in chronic obstructive pulmonary disease. *Biochem Soc Trans* 2002; 30: 98-102.
- 42 Belvisi MG, Bottomley KM. The role of matrix metalloproteinases (MMPs) in the pathophysiology of chronic obstructive pulmonary disease (COPD): A therapeutic role for inhibitors of MMPs. *Inflamm Res* 2003; 52: 95-100.
- 43 Yorgancıoğlu A. Hava yolu hastalıkları. In: Fraser RS, Colman N, Müller NL. (eds) (Türktaş H. (çeviri editörü)). *Synopsis of disease of the chest*. 3. baskı. Ankara Güneş Kitabevi; 2006: 627-713.
- 44 Hautamaki RD, Kobayashi DK, Senior RM, et al: Requirement for macrophage elastase for cigarette smoke-induced emphysema in mice. *Science* 1997; 277: 2002-4.
- 45 Hansel TT, Peter JB. eds. (Kocabaş A. (çeviri editörü)). *An atlas of chronic obstructive pulmonary disease*. London UK: 2004; 21-115.
- 46 Church F, Pryor W.A. Free-Radical Chemistry of Cigarette Smoke and Its Toxicological Implications. *Environmental Health Perspectives*, 1985; 64: 111-26.
- 47 Pryor W.A, Godber S.S. Noninvasive Measures of Oxidative Stress Status in Humans. *Free Radical Biology and Medicine*, 1991; 10: 177-84.

- 48 Dekhuijzen P.N.R. Aben K.K.A. Dekker I. et al. Increased Inhalation of Hydrogen Peroxide in Patients with Stable un unstable Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am. J. Respir. Crit Care Med.* 1996; 154: 813-6.
- 49 Hoidal J.R. Fox R.B. LeMarke P.A. et al. Altered Oxidative Metabolic Responses in Vitro Alveolar Macrophages from Asymptomatic Cigarette Smokers. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1981; 123: 85-9.
- 50 Ludwig P.W. Hoidal J.R. Alterations in Leukocyte Oxidative metabolisms in Cigarette Smokers. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1982; 126: 977-80.
- 51 Gump D.W. Phillips C.A. Forsyth B.R. et al. Role of Infection in Chronic Bronchitis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1976; 113: 465-74.
- 52 Riise G.C. Larsson S. Andersson B.A. Bacterial Adhesion to oropharyngeal and Bronchial Epitheat Cells in Smokers with Chronic Bronchitis and in Healthy Nonsmokers. *Eur. Respir. J.* 1994; 7: 1759-64.
- 53 Tager I. Speizer F.E. Role of Infection in Chronic Bronchitis. *N.Engl. J. Med.* 1975; 292: 563-9
- 54 Acıcan T. Güncel Bilgiler Işığında Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı, Saryal SB. Acıcan T. (eds), Ankara. Bilimsel Tıp Yayınevi 2003: 21–33.
- 55 Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 1256-76. 88
- 56 Matsuba K. Wright JL. Wiggs BR. et al. The changes in airways structure associated with reduced forced expiratory volume in one second. *Eur Respir J* 1989; 2: 834–9.
- 57 O'Donnell DE. Revill SM. Webb KA. Dynamic hyperinflation and exercise intolerance in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164: 770–7.
- 58 Saryal S.B. Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı Fizyopatolojisi. Eds. Umut S, Erdinç E. Tanımdan Tedaviye Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı. *Türk Toraks Derneği Kitapları.* Sayı 6. Galenos Yayıncılık San. Tic. Ltd. Şti 2008; 60-72.

- 59 Stanescu DC, Pride NB. Pathophysiology of chronic obstructive pulmonary disease. In: Gibson GJ, Geddes DM, Costabel U, Sterk PJ, Corrin B. (eds). Respiratory medicine. WB Saunders, Edinburg, 2003; 1155-70.
- 60 Erginel M.S. Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığında Sistemik Etkiler. Eds. Umut S, Erdinç E. Tanımdan Tedaviye Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı. Türk Toraks Derneği Kitapları. Sayı 6. Galenos Yayıncılık San. Tic. Ltd. Şti2008; 73-82.
- 61 Foster TS, Miller JD, Marton JP, et al. Assessment of the economic burden of COPD in the US: a review and synthesis of the literature. COPD 2006; 3: 211- 8.
- 62 Barbes PJ, Celli BR. Systemic manifestations and comorbidities of COPD. Eur Respir J 2009; 33: 1165-85.
- 63 Van Weel C. Chronic diseases in general practice: the longitudinal dimension. Eur J Gen Pract 1996; 2: 17-21
- 64 Janssen SP, Gayan-Ramirez G, Van Den BA, et al. Interleukin-6 causes myocardial failure and skeletal muscle atrophy in rats. Circulation 2005; 111: 996-1005.
- 65 Takabatake N, Nakamura H, Abe S, et al. The relationship between chronic hypoxemia and activation of the tumor necrosis factor- α system in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Am J Respir Crit Care Med 2000; 161:1179-84
- 66 Wouters EFM. Local and systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease. Proc Am Thorac Soc 2005;2: 26-33.
- 67 de Torres JP, Pinto-Palata V, Casanova C, et al. C-reactive protein levels and survival in patients with moderate to very severe COPD. Chest 2008; 133: 1336-43.
- 68 Dahl M, Tybjaerg-Hansen A, Vestbo J, et al. Elevated plasma fibrinogen associated with reduced pulmonary function and increased risk of chronic obstructive pulmonary disease. Am J Respir Crit Care Med 2001; 177: 269-78.
- 69 Polatli M, Cakir A, Cildag O, ve ark. Microalbuminuria, von Willebrand factor and fibrinogen levels as markers of the severity in COPD exacerbation J Thromb Thrombolysis 2008; 26: 97-102

- 70 Swallow EB, Reyes D, Hopkins NS, et al. Quadriceps strength predicts mortality in patients with moderate to severe chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 2007; 62: 115-20.
- 71 Gosker HR, Kubat B, Schaart G, et al. Myopathological features in skeletal muscle of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 2003; 22: 280-5.
- 72 Gürgün A. Kronik akciğer hastalıklarında nütrisyon. In: Erk M, Ergün P ed. *Pulmoner Rehabilitasyon*. Toraks Kitapları, İstanbul: Aves; 2009: 238-54.
- 73 Dourado VZ, Tanni SE, Vale SA, et al. Systemic manifestations in chronic obstructive pulmonary disease. *J Bras Pneumol* 2006; 32: 161-71.
- 74 Anthonisen NR, Connett JE, Enright PL, et al. Hospitalizations and mortality in the lung health study. *AmJ Respir Crit Care Med* 2002; 166: 333-9.
- 75 Gürgün A, Gürgün C. Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı ve Kardiyovasküler Sistem. *Tuberk Toraks* 2008; 56: 464-71.
- 76 Peinado VI, Barbea JA, Abate P, et al. Inflammatory reaction in pulmonary muscular arteries of patients with mild chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 1605-11.
- 77 Poulain M, Douchet M, Drapeau V, et al. Metabolic and inflammatory profile in obese patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Chron Respir Dis* 2008; 5: 35-41.
- 78 Karapolat H, Eyigör S, Gürgün A, ve ark. Erkek KOAH hastalarında osteoporozun değerlendirilmesi. *Osteoporoz Dünyasından* 2007; 13; 70-4.
- 79 Bacakoğlu F, Başoğlu ÖK, Gürgün A ve ark. Tiroid fonksiyon testi bozuklukları solunum yetmezliği olan olguların prognozunu etkiler mi? *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 2007; 55:329-35.
- 80 Köktürk N, Kırıçoğlu Erel C, Öztürk C. Akciğer kanseri moleküler biyolojisi. *Solunum* 2003; 5: Özel Sayı 1: 127-38.
- 81 Köktürk N. Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığında Komorbiditeler. In: Umut S, Erdiñç E ed. *Tanımdan tedaviye kronik obstrüktif akciğer hastalığı*. Toraks Kitapları, İstanbul:Galenos; 2008: 361-73.

- 82 Cote C, Zilberg MD, Mody SH, et al. Hemoglobin level and its clinical impact in a cohort of patients with COPD. *Eur Respir J* 2007; 29: 923-9.
- 83 Yohannes AM, Baldwin RC, Connolly MJ. Depression and anxiety in elderly patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Age Ageing* 2006; 35: 457-9.
- 84 Günen H. Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığında Klinik Bulgular ve Tanısal Yaklaşım. Eds. Umut S, Erdiñç E. Tanımdan Tedaviye Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı. Türk Toraks Derneği Kitapları. Sayı 6. Galenos Yayıncılık San. Tic. Ltd. Şti 2008; 83-92
- 85 Vestbo J. Clinical assessment, staging, and epidemiology of chronic obstructive pulmonary disease exacerbations. *Proc Am Thorac Soc* 2006; 3: 252-6.
- 86 Adams SG, Melo J, Luther M, Anzueto A. Antibiotics are associated with lower relapse rates in outpatients with acute exacerbations of COPD. *Chest* 2000; 117:1345-52.
- 87 BTS Guideline. Non invasive ventilation in acute respiratory failure. British Thoracic Society Standards of Care Committee. *Thorax* 2002; 57: 192-211.
- 88 Mehta S, Hill NS. Non invasive ventilation. State of the Art. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 540-77.
- 89 Lightowler JV, Wedzicha JA, Elliot M, Ram SF. Non invasive positive pressure ventilation to treat respiratory failure resulting from exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: Cochrane systematic review and metaanalysis. *BMJ* 2003; 326: 185-9.
- 90 Rossi A, Appendini L, Roca J. Physiological aspects of noninvasive positive pressure ventilation. *Eur Respir Mon* 2001; 16: 1-10.
- 91 Diaz O, Iglesia R, Ferrer M, et al. Effects of non invasive ventilation on pulmonary gas exchange and hemodynamics during acute hypercapnic exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 1840-5.
- 92 Woodhead M, Blasi F, Ewig S, et al. Guidelines for the management of adult lower respiratory tract infections. *Eur Respir J* 2005; 26: 1138-80.
- 93 Plant PK, Owent JL, Elliot MW. Early use of noninvasive ventilation for acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease on general respiratory wards: A multicenter randomized controlled trial. *Lancet* 2000; 355: 1931-5.

- 94 Meyer TJ, Hill NS. Noninvasive positive pressure ventilation to treat respiratory failure. *Ann Intern Med* 1994; 120:760-70.
- 95 Holford FD. Mithoefer JC. Cardiac arrhythmias in hospitalized patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* 1973; 108: 879-85.
- 96 Ilgazlı A. KOAH'ta tanı yöntemleri. *Klinik Aktüel Tıp* 2006;9:27-31.
- 97 Saryal SB. KOAH'da klinik bulgular ve tanı yöntemleri. In: Saryal SB, Acıcan T. eds. *KOAH Tanı ve Tedavi*. Ankara 2005: 24-54.
- 98 Humerfelt S. Gulsvik A. Skjaerven R. et al. Decline in FEV1 in airflow limitation related to occupational exposures in men of an urban community. *Eur Respir J* 1993;6:1095-103.
- 99 Mirici A. Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığında Tanımlama ve Ayırıcı Tanı. Eds. Umut S, Erdinç E. *Tanımdan Tedaviye Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı*. Türk Toraks Derneği Kitapları. Sayı 6. Galenos Yayıncılık San. Tic. Ltd. Şti 2008; 1-9.
- 100 Demir T. KOAH'ta solunum fonksiyon testleri. In: Umut S, Yıldırım N; eds. *Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı*. İstanbul 2005: 74-82.
- 101 Soguel Schenkel N. Burdet L. de Muralt B. et al: Oxygen saturation during daily activities in chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 1996; 9: 2584-9
- 102 Akman C. KOAH'da radyolojik bulgular. In: Umut S, Yıldırım N; eds. *Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı*. İstanbul 2005: 83-91.
- 103 Webb WR. Radiology of obstructive pulmonary disease. *AJR Am J Roentgenol* 1997;169: 637-47.
- 104 Fraser RS. Colman N. Müller NL. Pare PD. Chronic obstructive pulmonary disease. In: *Diagnosis of diseases of the chest*, 4 th ed. Vol 3. Philadelphia: W.B.Saunders. 1999; 2199-215.
- 105 Hansell DM. Diseases of the airways. In: Armstrong P. Wilson AG. Dee P. Hansell DM. (eds). *İmaging of the diseases of the chest*. 3rd ed. UK: Mosby, 2000; 893-948.
- 106 Pratt PC. Role of conventional chest radiography in diagnosis and exclusion of emphysema. *Am J Med* 1987; 82: 998-1006.

- 107 Samurkaşoğlu B. Epidemiyoloji ve risk faktörleri. In Saryal SB, Acıcan T (eds). Güncel Bilgiler Işığında Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı. Bilimsel Tıp Yayınevi, Ankara 2003; 9-20.
- 108 Jenkins CR, Jones PW, Calverley PM, et al. Efficacy of salmeterol/fluticasone propionate by GOLD stage of chronic obstructive pulmonary disease: analysis from the randomised, placebo-controlled TORCH study. *Respir Res* 2009; 10:59-68.
- 109 McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem.* 1993; 26(5):351-7.
- 110 Weiseger R.A. (1986) Oxygen Radicals and ischemic tissue injury. *Gastroenterology* 90, 494-496
- 111 Kılinc A, Kılinc K. Nitrik Oksit Biyolojik Fonksiyonları ve Toksik Etkileri. Palme Yayıncılık,1. Baskı, Ankara, s. 1-68, 2003
- 112 Breimer L. (1991) Repair Of DNA Damage. Induced By Reactive Oxygen Species. *Free Rad. Res. Commun* 14(3), 159-71.
- 113 Thomas M.J. (1995) The Role Of Free Radicals And Antioxidants: How Do We Know That They Are Working? *Critical Rew. Food. Sci. And Nutr.*35(1-2), 21-39.
- 114 Kılinc K, Kılinc A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp dergisi*, 2002; 33(2):110-118.
- 115 Scandalios JG: The rise of ROS. *Trends in Biochemical Sciences*, 2002; 27(9): 483-486.
- 116 Kremer TM, Rinne ML, Xu Y et al: Protection of pulmonary epithelial cells from oxidative stress by hMYH adenine glycosylase. *Respiratory Research*, 2004; 5:16.
- 117 Hegyi T, Goldie E, Hiatt M. The protective role of bilirubin in oxygen-radical diseases of the preterm infant. *J Perinatol*, 1994; 14: 296-300.
- 118 Asad SF, Singh S, Ahmad A et al. Prooxidant and antioxidant activities of bilirubin and its metabolic precursor biliverdin: a structure-activity study. *Chem Biol Interact*, 2001;137: 59- 74.
- 119 Akkuş İ. Serbest Radikaller ve Fizyoterapik Etkileri. Mimosza Basım, Konya, s. 4-113

- 120 Cros CE, Halliwell B, Borish E et al. Oxygen Radicals And Human Disease. *Ann Intern. Med.* 1987; 107(4): 526 – 45.
- 121 Dotan Y, Lichtenberg D, Pinchuk I. (2004) Lipid Peroxidation Cannot Be Used As a Universal Criterion Of Oxidative Stres. *Prog Lipid Res* 2004;43(3):200-27
- 122 Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull.* 1993;49:481-93
- 123 Mead J. Free radical mechanisms in lipid peroxidation and prostaglandins. *Free radical in moleculer biology. J. Aging and disease.* 65: 53-66,1984.
- 124 Minetti M, Mallozzi C, Di Stasi AM, Pietraforte D.: Bilirubin is an effective antioxidant of peroxynitrite-mediated protein oxidation in human blood plasma. *Arch Biochem Biophys*, 1998; 352(2):165-74.
- 125 Otani K, Shimizu S, Chijiwa K et al. Increased Urinary Excretion of Bilirubin Oxidative Metabolites in Septic Patients: A New Marker for Oxidative Stress in Vivo¹. *Journal of Surgical Research*, 2001; 96(1): 44–49.
- 126 Stocker R: Antioxidant activities of bile pigments. *Antioxid Redox Signal*, 2004; 6(5):841-9.
- 127 Gopinathan V, Miller NJ, Milner AD et al. Bilirubin and ascorbate antioxidant activity in neonatal plasma. *FEBS Lett.* 1994; 349:197-200.
- 128 Raha S, Robinson BH. Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. *Trends Biochem Sci.* 2000; 25(10):502-8.
- 129 Gutteridge J.M. (1995) Lipid Peroxidation And Antioxidants As Biomarkers Of Tissue Damage. *Clin Chem* 41, 1819-1828.
- 130 Maddipati KR, Marnet LJ. (1987) Characterization Of The Major Hydroperoxide Reducing Activity Of Human Plasma. Purification And Properties Of A Selenium-Dependent Glutathione Peroxidase. *J Biol Chem* 262(36): 17398-403.
- 131 Gutteridge JM, Peterson SK, Segal AW, Halliwell B. (1981) Inhibition Of Lipid Peroxidation By The Iron Binding Protein Lactoferrin. *Biochem J* 199(1), 259-61.

- 132 Kiely M, Morrissey PA, Cogan PF et al. Low molecular weight plasma antioxidants and lipid peroxidation in maternal and cord blood. *Eur J Clin Nutr*, 1999; 53(11):861-4.
- 133 Bolisetty S, Naidoo D, Lui K et al. Postnatal changes in maternal and neonatal plasma antioxidant vitamins and the influence of smoking. *Arch Dis Child Fetal Neonatal*, 2002; 86(1):36-40.
- 134 Romay C, Pascual C, Lissi EA. The reaction between ABTS radical cation and antioxidants and its use to evaluate the antioxidant status of serum samples. *Braz J Med Biol Res*, 1996; 29(2):175-83.
- 135 Stocker R, Peterhans E. Synergistic interaction between vitamin E and the bile pigments bilirubin and biliverdin. *Biochim Biophys Acta*, 1989; 1002(2):238-44.
- 136 Harma M, Erel O: Oxidative stress in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*; 2005; 192(2): 656-7
- 137 Harma M, Erel O: Measurement of the total antioxidant response in preeclampsia with a novel automated method. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*; 2005; 118(1): 47-51.
- 138 Erol MK. Yoğun bakım hastalarında propofol, deksmedetomidin ve midazolam infüzyonlarının sedasyon, oksidan-antioksidan sistem üzerine etkilerinin karşılaştırılması. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı Uzmanlık tezi. Şanlıurfa. 2011.
- 139 Milligan A. Brown G. :Prolidase Deficiency : a Case Report and Literature Review. *Brit J. Dermatol* 121:405 –409 1989.
- 140 Davis NC, Smith EL: Purification and Some Properties of Prolidase of Swine Kidney, *J. Biol Chem*, 244:261-275, 1957.
- 141 Mock WL. Zhuang H. : Chemical Modification Locates Guanidinyl and Carboxylate Groups Within The Active site of prolidase *Biochem biophys Res Com*. 180(1): 401-406 1991.
- 142 Sugahara K. Ohno T. : The Use of liquid chromatography Mass spectrometry for the identification and Quantification of Urinary immunodipeptidase in prolidase deficiency . *Eur J clin-Chem Clin Biochem* 31: 317-322 1993

- 143 Yaron A, Naider F. Proline-dependent structural and biological properties of peptides and proteins. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 1993;28:31–81
- 144 Myara I, Cosson C. Moatti N. Lemonnier A. : Human kidney prolidase-purification preincubation properties and immunological reactivity. *Int. J Biochem.* 26(2): 207-214 1994.
- 145 Cesson C. Myara I. : Only prolidase I Activity is present in human plasma. *Int. J Biochem.* 24(3):427-432 1992
- 146 Boright A, Scriver CR: Prolidase Deficiency: Biochemical Classification of Alleles *Am J Hum Genet* 44:731-740, 1989
- 147 Mock WL. Gren PC. : Mechanism and inhibition of prolidase. *J Biol chem* 265 (32): 19606-19610 1990
- 148 Oono T. Arata J. . Characteristics of prolidase and prolidase in prolidase-deficient patients with some preliminary studies of their role in Skin. *J dermatol.* 15 212-219 1988.
- 149 Radzicka A. Wolfenden R. : Analogues of intermediates in Action of pig kidney prolidase *Biochemistry.* 30: 4160-4164 1991.
- 150 Persson B., Flinta C., Vonheijne G. Jorvalle. *EUR. J Biochem* 152 (1985) 523-527.
- 151 Yareğir G. : Temel Biyokimya I. 3. Baskı Çukurova. Üniv. Tıp fakültesi Yayınları Adana 1988 152-153
- 152 Scriver CR. : Disorder of proline and hydroxyproline Metabolism. In: *the metabolic Basis of Inherited Disease* (4th Ed.) STANBURY J. B. Et al. 336-361. 1978.
- 153 Myara I, Myara A. Plasma prolidase activity: A Possible Index of Collagen Catabolism in Chronic Liver Disease. *Clin Chem.* 1984; 30 (2): 211-215.
- 154 Berardesca E. Fidell D. : Blood transfusions in the therapy of case of prolidase deficiency. *Brit J Dermatol.* 126:193-195 1992.
- 155 Endo F. Matsuda I. : Human erythrocyte Prolidase and prolidase deficiency. *Pediatr Res* 16: 227-231(1982).

- 156 Ogata A, Tanaka T, Tomoda E, Murayama F, Endo F, Kukuchi I. (1981) *Arah. Dermatol.* 117:687-697
- 157 Tanoue A, Endo F, Kitano A, Matuda I. *d. Clin in vest* 86(1990) 351-355.
- 158 Powell GF., Rasco MA., Maniscalco RM: A prolidase deficiency in man with iminopeptiduria. *Metabolism* 23:505 (1974).
- 159 Caufield JB, Borg TK. The collagen network of the heart. *Lab Invest* 1979; 40: 364-72.
- 160 Hardenbergh PH, Munley MT, Bentel GC et al. Cardiac perfusion changes in patients treated for breast cancer with radiation therapy and doxorubicin: preliminary results. *Int J Rad Oncol Biol Phys* 2001; 49: 1023-8.
- 161 Shultz-Hector S. Radiation-induced heart disease: review of experimental data on dose response and pathogenesis. *Int J Radiat* 1992; 61: 149-60.
- 162 Hein SS, Schaper J. The extracellular matrix in normal and diseased myocardium. *J Nucl Cardiol* 2001; 8: 188-96.
- 163 Rojkind M, Gattmaitan Z.: Connective tissue biomatrix in rat hepatocytes. *J. Cell. Biol* 87: 55-256 1980.
- 164 Aksoy N, Çelik H, Selek S, Güzel S, Aslan M, Elçi K, *Turk J Biochem* 2005; 30:1-172.
- 165 Çelik H, Aksoy N, Aslan M, Nalgül Y, Barut S *Turk J Biochem.* 2005; 29 (1): 1-172.
- 166 Söner Y., Gürdöl F., Tuğrul Y., Bekpınar S: Prolidase I activity in liver tissue: effects of ethanol and selenium. *Res Commun Alcohol Subs Abuse* 16:125 (1995).
- 167 Gürdöl F., Genç S., Yalçın Ö., Gültepe M: The presence of prolidase activity in amniotic fluid and its evaluation as a maturity test. *Biol Neonate* 67:34 (1995).
- 168 Hui KS., Lajtha A: Prolidase activity in brain: Comparison with other organs. *J Neurochem* 30:321 (1978).

- 169 Arata J., Umemura S., Yamamoto Y., Hagiya M., Nohara N: Prolidase deficiency: Its dermatological manifestations and some additional biochemical studies. *Arch Dermatol* 115:62 (1979).
- 170 Butterworth J., Priestman DA: Presence in human cells and tissues of two prolidases and their alteration in prolidase deficiency. *J Inher Metab Dis* 8:193 (1985).
- 171 Abraham, P., Wilfred, G., Ramakrisna, B., 2000. Plasma prolidase may be an index of liver fibrosis in the rat. *Clin. Chim. Acta* 295, 199–202.
- 172 Lenz AG, Hinze-Heyn H, Schneider A, et al. Influence of inflammatory mechanisms on the redox balance in interstitial lung diseases. *Respir Med* 2004;98:737–745.
- 173 Gencer M, Aksoy N, Dagli E, Uzer E, Aksoy Ş, Selek S, Celik H, and Cakir H *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 25 : 8–13 (2011)
- 174 Oono T, Fujiwara Y, Yoshioka T, Arata J.: Prolidase activity in chronic wound and blister fluids. *J Dermatol.* 24(10): 626-9 1997.
- 175 Zuyderhoudt M.C, Brugman A. M, Smith J. J.H, Jong L.: Plasma prolidase in the rat; no index of liver fibrosis. *Clinical Chemistry* 31:4, 1985.
- 176 Alparslan S, Gültepe M: Serum Prolidase Activity: Its Value as an Indicator of Collagen Accumulation in Chronic Liver Diseases. *Biyokimya Dergisi*, 18(1):1-9, 1993
- 177 Endo F., Tanoue A.: Primary Structure and Gene Localization of Human Prolidase. *J Biol Chem.* 264: 4476-4481, 1989.
- 178 Zanaboni G., Viglio S.: Direct Monitoring of Prolidase Activity in Cultured Skin Fibroblasts Using Capillary Electrophoresis. *J Chromatogr.* 695 77-84, 1997.
- 179 Kodama H., Mikasa H.: Biochemical Investigations on Prolidase and Prolinase in Erythrocytes from Patients with Prolidase Deficiency. *Clin Chim Acta*, 173:317-324, 1988.
- 180 Tso M.O, Jampol L.M. Pathophysiology of hypertensive retinopathy *Journal of American Academy of Ophthalmology* Volume 89, Issue 10, pages 1132-1145
- 181 Dolenga M., Hechtman P.: Prolidase Deficiency in Cultured Human Fibroblasts: Biochemical Pathology and Iminodipeptid Enhanced Growth. *Pediatr Res.* 32(4): 479-482, 1992.

- 182 Phang JM., Yeh GC., Scriver.: Disorders of Proline and Hydroxyproline Metabolism. In: The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease, (7th Ed) Scriver RC., Blandet al., Sly WS., (Eds) Mc Graw Hill, Montreal 1995, 1125-1141.
- 183 Erel O. : A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem*, 2004; 37: 277-85.
- 184 Braido F, Riccio AM, Guerra L, et al. Clara cell 16 protein in COPD sputum: A marker of small airways damage? *Respir Med* 2007;101:2119–2124
- 185 Ceylan E, Aksoy N, Gencer M, et al. Evaluation of oxidative-antioxidative status and the L-arginine-nitric oxide pathway in asthmatic patients. *Respir Med* 2005;99:871–876.
- 186 Ceylan E, Kocyigit A, Gencer M, et al. Increased DNA damage in patients with chronic obstructive pulmonary disease who had once smoked or been exposed to biomass. *Respir Med* 2006;100:1270–1276.
- 187 Vibhuti A, Arif E, Deepak D, et al. Correlation of oxidative status with BMI and lung function in COPD. *Clin Biochem* 2007;40: 958–963.
- 188 Ceylan E, Gencer M, Uzer E, Celik H. Measurement of the total antioxidant potential in chronic obstructive pulmonary diseases with a novel automated method. *Saudi Med J* 2007; 28:1339–1343.
- 189 Vural H, Aksoy N, Ceylan E, et al. Leukocyte oxidant and antioxidant status in asthmatic patients. *Arch Med Res* 2005;36:502–506.
- 190 Picado C, Deulofen R, Leonart R, et al. Dietary micronutrient- and their relationship with bronchial asthma severity. *Allergy* 2001;56:43–49.
- 191 Aksoy N, Vural H, Sabuncu T, Aksoy S. Effects of melatonin on oxidative-antioxidative status of tissues in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cell Biochem Funct* 2003;21:121–125
- 192 Erel O. : A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *J. Clinical Biochemistry*: 37: 112-9, 2004
- 193 Erel O. : A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *J. Clinical Biochemistry*. 47: 119-29, 2005.

- 194 Koltas IS, Yucebilgic G, Bilgin R, Parsak CK, Sakman G. Serum malondialdehyde level in patients with cystic echinococcosis. *Saudi Med J.* 2006; 27(11):1703-5.
- 195 Yorulmaz D. A., Metin A., Işıkoğlu S., Erel Ö.: Şiddetli Akne Vulgarisli Hastalarda İzotretinoinin Oksidatif Stres Üzerine Etkisi *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2012;32(4):1026-1031
- 196 Gencer M, Aksoy N, Dagli C, Uzer , Aksoy Ş, Selek S, Celik H, Cakir H Prolidase Activity Dysregulation and its Correlation with Oxidative–Antioxidative Status in Chronic Obstructive Pulmonary Disease *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 25 : 8–13 (2011).
- 197 Nacar H. Akciğer Kist Hidatik Operasyonlarında Sevofluran Ve Desfluran Anestezilerinin Oksidatif Stres Parametreleri Ve Prolidaz Enzim Aktivitesi Üzerine Etkileri. *HRÜ Anestezi ve Reanimasyon ABD, Tıpta Uzmanlık tezi, Şanlıurfa* 2011
- 198 Brosset B, Myara I, Fabre M, Lemonnier A. Plasma prolidase and prolinase activity in alcoholic liver disease. *Clin Chim Acta* 1988;175:291–295.
- 199 Rabus M. Demirbag R. Yildiz A. Association of prolidase activity, oxidative parameters and presence of atrial fibrillation in patients with mitral stenosis *Archives of Medical Research* 39 (2008) 519- 524
- 200 Altindag O, Erel O, Aksoy N, Selek S, Celik H, Karaoglanoglu M Increased oxidative stress and its relation with collagen metabolism in knee osteoarthritis. *Rheumatol Int.* 2007 Feb;27(4):339-44. Epub 2006 Nov 10
- 201 Aslan M, Nazligul Y, Horoz M, Bolukbas C, Bolukbas FF, Aksoy N, Celik H, Erel O. Serum prolidase activity and oxidative status in *Helicobacter pylori* infection. *Clin Biochem.*2007 Jan;40(1-2):37-40. Epub 2006 Aug 30.
- 202 Kaleli S, Akaya A, Akdoğan M, Gültekin F. The Effects of different treatments on prolidase and antioxidant enzyme activities in patients with bronchial asthma. *Environmental Toxicology and pharmacology* 2006 22 (2006) 35-39
- 203 Gejyo F, Kishore BK, Arakawa M. Prolidase and prolinase activities in the erythrocytes of patients with chronic uremia. *Nephron* 1983;35:58–61.
- 204 Evrenkaya TR, Atasoyu EM, Kara M, Unver S, Gultepe M The role of prolidase activity in the diagnosis of uremic bone disease *Ren Fail.* 2006;28(4):271-4.

- 205 Erbağci AB, Araz M, Erbağci A, Tarakçioğlu M, Namiduru ES Serum prolidase activity as a marker of osteoporosis in type 2 diabetes mellitus. Clin Endocrinol (Oxf). 2009 Mar;70(3):469-74. Epub 2008 Aug 22
- 206 Chamson A, Voigtlander V :Collagen Biosynthesis Anomalies in Prolidase Deficiency.Effect of Glycl-L-Proline on the Degradation of Newly Synthesized Collagen.Clin Physiol Biochem. 1989; 7: 128-136
- 207 Cakmak A, Zeyrek D, Atas A, Celik H, Aksoy N, Erel O. Serum prolidase activity and oxidative status in patients with bronchial asthma. J Clin Lab Anal 2009;23:132–138
- 208 Myara I, Miech G, Fabre M, Mangeot M, Lemonnier A:Changes in prolinase and prolidase activity during CCl4 administration inducing liver cytolsis and fibrosis in rat Br J Exp Pathol 68:7 (1987).
- 209 İyidoğan YÖ, Gürdöl F, Öner P: Serum prolidaz I aktivitesinin kemik yapım-yıkımindexi olarak değerlendirilmesi. İst.Tıp Fak.Mecmuası. 1999; 62: 2.
- 210 Yıldız A. Hiperbarik oksijen tedavisinde prolidaz enzim seviyeleri.Gülhane Tıp Dergisi,2004;46(2):144-148.
- 211 Göçebe M. Prolidaz Enziminin Serum Aktivite Değerlerini Kardiyak Hipertrofi Hastalarda Tespit Ederek Hastalığın Erken Tanısı Açısından Prolidaz Enzim Aktivitesin Bir Rolü Olup Olamayacağını İncelemek Uzmanlık Tezi. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Bilim Dalı Sanlıurfa. 2007.
- 212 Namiduru ES, Binnur Erbagci A, Celik A, Yilmaz M, Tarakçioğlu M.Serum prolidase activity in postmenopausal osteoporosis Minerva Med. 2007 Dec;98(6):647-51.