

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KİSTİK FİBROZİS DIŞI BRONŐIEKTAZİ
HASTALARINDA DNA HASARI VE OKSİDATİF
METABOLİZMANIN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Hasan KAPAKLI

DANIŐMAN

Doç. Dr. C. Dost ZEYREK

ŐANLIURFA
2012

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KİSTİK FİBROZİS DIŞI BRONŐIEKTAZİ
HASTALARINDA DNA HASARI VE OKSİDATİF
METABOLİZMANIN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ
Dr. Hasan KAPAKLI

DANIŐMAN
Doç. Dr. C. Dost ZEYREK

Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 1161 proje numarası ile desteklenmiŐtir.

ŐANLIURFA
2012

TEŞEKKÜR

Tez konusunun belirlenmesinde, çalışmaların planlanması ve yürütülmesi esnasında destek ve yardımlarını gördüğüm değerli tez hocam Doç. Dr. C. Dost ZEYREK'e teşekkürlerimi sunarım.

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniğindeki uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde büyük emeği geçen, her konuda desteğini esirgemeyen, tecrübe ve deneyimlerinden çok şey kazandığım değerli hocalarım; Prof. Dr. Ahmet KOÇ, Prof. Dr. Akın İŞCAN, Doç. Dr. Alpay ÇAKMAK, Doç. Dr. Ali AYÇİÇEK, Doç. Dr. Ali ATAŞ, Doç. Dr. Kabil SHERMATOV, Yrd. Doç. Dr. Mahmut ABUHANDAN, Yrd. Doç. Dr. Mustafa SORAN ve Yrd. Doç. Dr. Bülent KOCA'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarımıdaki yardım ve desteklerinden dolayı Biyokimya Anabilim Dalı'ndaki sevgili hocam Prof. Dr. Abdurrahim KOÇYİĞİT, Biyolog Abdullah TAŞKIN, Halil BADEM ve laboratuvar çalışmaları esnasında yardımlarından dolayı Biyokimya A.D. çalışanlarına gönülden teşekkür ederim.

Tez çalışmalarımıdaki yardım ve desteklerinden dolayı Radyoloji Anabilim Dalı'ndaki Yrd. Doç. Dr. Hasan ÇEÇE ve Yrd. Doç. Dr. Fatıma Nurefşan BOYACI'ya teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık eğitimim süresince klinikteki çalışmalarında ve tezimde yardımlarını esirgemeyen ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, sıkıntılı ve güzel günleri paylaştığım değerli arkadaşlarım Çocuk Kliniği asistanlarına, hemşirelerine ve personeline ayrıca teşekkür ederim.

Eğitim süresince maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili aileme teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Hasan KAPAKLI

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLO LİSTESİ	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VI
KISALTMALAR	VIII
ÖZET	IX
SUMMARY	X
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Bronşektazi	3
2.1.1. Bronşektazi Tanımı	3
2.1.2. Patoloji	4
2.1.3. Etyoloji	5
2.1.4. Semptom ve Bulgular	7
2.1.5. Tanı	8
2.1.6. Bronşektazide Yüksek Rezolüsyonlu Akciğer Tomografisi (YRBT)'nin	
Yeri	10
2.1.7. Bronşektazide Solunum Fonksiyon Testleri	11
2.1.8. Bronşektazide Hava Yolu İnflamasyonu	12
2.1.9. Akut Alevlenme	14
2.1.10. Bronşektazi Tedavisi	15
2.1.11. Bronşektazi Komplikasyonları ve Prognoz	16
2.2. DNA Hasarı	16
2.2.1. DNA'nın Yapısı ve Fonksiyonu	17
2.2.2. DNA Hasarı Oluşum Nedenleri	20
2.2.3. DNA Hasarı Tipleri	21
2.2.3.1. Deaminasyon	22
2.2.3.2. Depürinasyon	23

2.2.3.3. Alkilasyon	23
2.2.3.4. T-T ve T-C dimerleri oluşumu	24
2.2.3.5. Replikasyon Hataları	24
2.2.3.6. Çift İplik Kırıkları Oluşumu	24
2.2.3.7. Oksidatif Stresin Neden Olduğu DNA Hasarı	25
2.2.4. DNA Tamiri	27
2.3. Total Oksidan Seviye, Total Antioksidan Kapasite ve Oksidatif Stres İndeksi	28
2.3.1. Serbest Radikaller	29
2.3.1.1. Süperoksit Radikali (O_2^-)	30
2.3.1.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)	30
2.3.1.3. Hidroksil Radikali (HO^\cdot)	30
2.3.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri	31
2.3.2.1. Membran Lipidlerine Etkisi (Lipid Peroksidasyonu)	31
2.3.2.2. Proteinlere Etkisi	32
2.3.2.3. Nükleik asitlere Etkileri	32
2.3.2.4. Karbonhidratlara Etkileri	33
2.3.3. Antioksidan Mekanizmalar	33
2.3.3.1. Enzim Olan Antioksidanlar	34
2.3.3.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	34
2.3.3.1.2. Katalaz	34
2.3.3.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)	34
2.3.3.1.4. Glutatyon-S-Transferaz (GST)	35
2.3.3.1.5. Glutatyon Redüktaz (GR)	36
2.3.3.1.6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz	36
2.3.3.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar	36
2.3.3.2.1. Glutatyon (GSH)	36
2.3.3.2.2. Vitamin C (Askorbik Asit)	36
2.3.3.2.3. Vitamin E (Tokoferol)	37
2.3.3.2.4. β Karoten	37
2.3.3.2.5. Seruloplazmin	38
2.3.4. Total Antioksidan Kapasite	38
2.3.5. Oksidatif Stres	38

3. MATERYAL VE METOD	40
3.1. Yöntem	41
3.1.1. Toplam Antioksidan Status Düzeyinin Ölçümü (TAS)	41
3.1.2. Toplam Oksidan Status Düzeyinin Ölçümü (TOS)	41
3.1.3. Oksidatif Stres İndeksi Ölçümü (OSİ)	42
3.1.4. Mononükleer Lökositlerin Seperasyonu	42
3.1.5. Comet Assay Yöntemi ile DNA Hasar Tayini	42
3.1.5.1. Yöntemin Prensibi	42
3.1.5.2. Yönteminin Uygulanışı	42
3.1.5.2.1. Slaytların Hazırlanması	43
3.1.5.2.2. Lizis aşaması	43
3.1.5.2.3. Elektroforez Tamponu	43
3.1.5.2.4. Elektroforezde Yürütme	43
3.1.5.2.5. Nötralizasyon	43
3.1.5.2.6. Boyama	44
3.1.5.2.7. Analiz	44
3.2. Yapılan İstatistiksel Analizler	45
4. BULGULAR	46
5. TARTIŞMA	55
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	61
7. KAYNAKLAR	62

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Bronşektazi sebepleri	6
Tablo 2. Çocukluk bronşektazisinde başvuru semptomları ve klinik bulgular	7
Tablo 3. Bronşektazili çocukta altta yatan hastalığın tanısı için yapılması gereken tetkikler	9
Tablo 4. Çocukluk bronşektazisinde etkilenen akciğer bölgelerinin dağılımı	10
Tablo 5. Bronşektazili hastaların balgamlarında üretilen mikroorganizmalar	16
Tablo 6. Oksijen türevi bileşikler	30
Tablo 7. Bronşektazi ve kontrol grubunun yaş, cinsiyet ve akrabalık değerleri dağılımı.	46
Tablo 8. Bronşektazi hastaları ve kontrol grubunun DNA hasarı ve oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması	47
Tablo 9. Bronşektazi vakalarının DNA hasarı, oksidan-antioksidan sistem, hastalık maruziyet süresi ve Reiff skorlarına ait korelasyon değerleri	50

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Bronşektazinin formları	4
Şekil 2. Kronik akciğer enfeksiyonu sırasında oluşan olayların kısır döngüsü	14
Şekil 3. DNA'nın çift sarmallı yapısı	18
Şekil 4. DNA'da replikasyon oluşumu	19
Şekil 5. Deaminasyon oluşumu	22
Şekil 6. Depürinasyon oluşumu	23
Şekil 7. Guanindeki kimyasal hasar bölgeleri (alkilasyon, oksidasyon, radyasyon)	24
Şekil 8. Çift İplik Kırıkları	25
Şekil 9. 8-hidroksiguanin ve FapyGuo'nun oluşum mekanizmaları	26
Şekil 10. DNA Hasarı sonucu oluşan süreç	27
Şekil 11. Serbest radikallerin hasar oluşturma mekanizmaları	31
Şekil 12. DNA hasarları sonucu meydana gelen hasarların elektroforez migrasyonu sonrası DNA'ların flüresan mikroskop altındaki görüntüleri	44
Şekil 13. Kistik fibrozis dışı bronşektazi hastalarının etyolojilerine göre dağılımı	47
Şekil 14. Bronşektazi vakalarının ve kontrol grubunun DNA hasarı düzeyleri	48
Şekil 15. Bronşektazi vakalarının ve kontrol grubunun TOS düzeyleri	48

Şekil 16. Bronşektazi vakalarının ve kontrol grubunun TAS düzeyleri	49
Şekil 17. Bronşektazi vakalarının ve kontrol grubunun OSİ düzeyleri	49
Şekil 18. Bronşektazi vakalarının maruziyet süresi ile DNA hasarı arasındaki korelasyon grafiği	51
Şekil 19. Bronşektazi vakalarının maruziyet süresi ile TOS arasındaki korelasyon grafiği	51
Şekil 20. Bronşektazi vakalarının maruziyet süresi ile TAS arasındaki korelasyon grafiği	52
Şekil 21. Bronşektazi vakalarının maruziyet süresi ile OSİ arasındaki korelasyon grafiği	52
Şekil 22. Bronşektazi vakalarının Reiff Skoru ile DNA Hasarı arasındaki korelasyon grafiği	53
Şekil 23. Bronşektazi vakalarının Reiff Skoru ile TOS arasındaki korelasyon grafiği	53
Şekil 24. Bronşektazi vakalarının Reiff Skoru ile TAS arasındaki korelasyon grafiği	54
Şekil 25. Bronşektazi vakalarının Reiff Skoru ile OSİ arasındaki korelasyon grafiği	54

KISALTMALAR

A	Adenin
Ark.:	Arkadaşları
AU:	Arbitrary Unit
BAL:	Bronko Alveolar Lavaj
BER:	Baz Eksizyon Tamiri
BMI:	Vücut Kitle İndeksi
C:	Sitozin
DNA:	Deoksiribonükleik Asit
EDTA:	Etilen daimin tetra asetik asit
ETS:	Elektron transport sistemi
G:	Guanin
GR:	Glutatiyon Redüktaz
GSH:	Glutatiyon
GSH-Px:	Glutatiyon Peroksidaz
GST:	Glutatiyon S Transferaz
HO [•] :	Hidroksil
H ₂ O ₂ :	Hidrojen Peroksit
KOAH:	Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı
MDA:	Malondialdehid
mG:	Metilguanin
NER:	Nucleotide Excision Repair (Nükleotid Çıkarma Onarımı)
ng:	Nanogram
O ₂ ⁻ :	Süperoksit Radikali
OS:	Oksidatif Stres
OSİ:	Oksidatif Stres İndeksi
ORS:	Oral Rehidrasyon tuzları
NO:	Nitrik Oksit
NO ₂ :	Nitrik Dioksit
PEM:	Protein Enerji Malnütrasyonu
SFT:	Solunum Fonksiyon Testi
SOD:	Süperoksit Dismutaz
SOR:	Serbest oksijen Radikali
T:	Timin
TAS:	Total Antioksidan Seviye
TOS:	Total Oksidan Seviye
U:	Urasil
UV:	Ultraviyole
YRBT:	Yüksek Rezolüsyonlu Bilgisayarlı Tomografi

ÖZET
KİSTİK FİBROZİS DIŞI BRONŞEKTAZİ HASTALARINDA DNA
HASARI VE OKSİDATİF METABOLİZMANIN
DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Hasan KAPAKLI

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi

Amaç: Bu çalışma ile Kistik Fibrozis Dışı Bronşektazili çocuklarda DNA hasarı, total antioksidan seviye (TAS), total oksidan seviye (TOS) ve oksidatif stres indeksinin (OSİ) birlikte çalıőılması ve aralarındaki ilişkinin araőtırılması amaçlandı.

Yöntem: Çalışmaya yaş ortalaması 10.4 ± 3.27 yaş olan 45 kistik fibrozis dışı bronşektazi hastası ve yaş ortalaması $9,36 \pm 3,65$ olan 36 sağlıklı çocuk alındı. Çocuklara ve ailelerine sosyo - demografik özelliklerini inceleyen anket uygulandı. Kontrol grubu aynı yaştaki ve sosyo - demografik durumları hasta grubuyla uyumlu çocuklardan seçildi. DNA hasar tayini, Comet Assay (alkali mononükleer hücre elektroforezi) yöntemi ile taze heparinize kandan çalışıldı. Periferik venöz kandan TOS ve TAS Ö. Erel yöntemi ile çalışıldı ve OSİ değerleri hesaplandı. İstatistiksel analizler SPSS 11,5 kullanılarak yapıldı. *p* değerinin $<0,05$ olması anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular: Kistik fibrozis dışı bronşektazili hastalarda TOS,OSİ seviyeleri ve DNA hasarı kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu (sırasıyla $p<0,01$, $p<0,001$, $p<0,001$). TAS düzeyi kistik fibrozis dışı bronşektazili hastalarda kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0,001$).

Sonuç: Kistik fibrozis dışı bronşektazi hastalarında oksidatif stres ve DNA hasarının kontrol grubuna göre yüksek olduğunu saptadık. Kistik fibrozis dışı bronşektazili çocuklarda görülen oksidatif stres düzeyindeki artışla, DNA hasarı arasında bir ilişki olduğu görölmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kistik Fibrozis Dışı Bronşektazi, DNA Hasarı, Oksidan-Antioksidan sistem.

SUMMARY

ASSESSMENT OF TOTAL OXIDATIVE METABOLISM AND DNA DAMAGE IN CHILDREN WITH NON-CYSTIC FIBROSIS BRONCHIECTASIS

HASAN KAPAKLI, MD

Department of Pediatrics, Medical Specialization Thesis

Objective: At this study, it is aimed to research DNA damage, total antioxidant status (TAS), total oxidant status (TOS) and oxidative stress index (OSI) in children with non-cystic fibrosis bronchiectasis.

Methods : 45 patients with non-cystic fibrosis bronchiectasis with mean age of 10.4 ± 3.27 years and 36 healthy children with mean age of $9,36 \pm 3,65$ were included in this study. Questionnaire about socio - demographic characteristics was administered to children and their families. The control group of the same age and socio - demographic conditions compatible with the patient group was selected from children. Determination of DNA damage was studied in fresh heparinized blood by the Comet Assay (mononuclear cell alkaline electrophoresis) method. Peripheral venous blood TOS and TAS were measured by Ö Erel method and OSI values were calculated. Statistical analysis was performed using SPSS 11.5. A p value <0.05 was considered to be significant.

Results: In the patients with non-cystic fibrosis bronchiectasis, TOS, OSI levels and DNA damage were significantly higher than the control group (respectively, $p<0,01$, $p<0,001$, $p<0,001$). So, the average TAS in patients with non-cystic fibrosis bronchiectasis group were significantly lower than the control group ($p<0,001$)

Conclusion: We report that oxidative stress and DNA damage levels are higher in the patient with non-cystic fibrosis bronchiectasis. There is a positive correlation between the oxidative stress and DNA damage.

Key Words: Non-cystic fibrosis bronchiectasis, DNA damage, oxidant - antioxidant system.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bronşektazi; tekrarlayan ve sık antibiyotik kullanımını gerektiren akciğer enfeksiyonları, prodüktif öksürük, balgam çıkarma, nefes darlığı ve hemoptizi gibi belirtileri olan kronik bir hastalıktır. Bronşların anormal ve kalıcı olarak genişlemesiyle karakterizedir (1,2).

Bronşektazinin etyolojisinde; enfeksiyonlar (pnömoni, tüberküloz, AIDS), yabancı cisim aspirasyonu, astım, kistik fibrozis, immün yetmezlik, primer silyer diskinezi, aspirasyon sendromları, gelişimsel anomaliler yer almaktadır (3).

Çocuklarda erişkinlere oranla nadir olan bu hastalık; düşük sosyoekonomik sınıf ve gelişmekte olan ülkelerde; tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonları, hava kirliliği, yetersiz aşılama ve malnutrisyon sebebiyle daha sıktır (4).

Bronşektazinin patofizyolojisinde; kronik solunum yolu enfeksiyonları, hastanın aşırı ve dengesiz inflamatuvar cevabı, mediatör salınımı ve bunlara bağlı olarak gelişen transmural hava yolu hasarı ve genişlemesi bulunmaktadır (1). Bu durum hastanın kliniğine; öksürük, balgam çıkarma, nefes darlığı, solunum fonksiyon testlerinde bozulma gibi bulgularla yansımakta ve oluşan patoloji radyolojik olarak gösterilebilmektedir.

Bronşektazisi kanıtlanmış hastaların mukoza biyopsilerinde; yoğun nötrofil birikimi, balgamlarında artmış elastaz, TNF- α , IL-8 ve prostanooid düzeyleri olduğu gösterilmiştir (5-11).

Oksidatif stres ateroskleroz, karsinogenezis, astım, KOAH, romatoid artrit ve psöriyazis gibi kronik inflamatuvar hastalıkların patogenezinde yer almaktadır (12). Bronşektazide de artmış inflamasyona bağlı oksidatif stres mevcuttur. Oksidatif stres, artmış oksidana maruz kalma ya da azalmış antioksidan kapasite olarak tanımlanabilir (13).

Serbest oksijen radikallerinin (SOR), doku hasarı ve değişik hastalıkların etyopatogenezindeki rolü son yıllarda tıpta giderek artan ilgi alanı oluşturmaktadır. Akciğerler, oksidana maruz kalmayı minimum düzeye indirmek için antioksidanlara sahiptir, ancak serbest oksijen radikallerinin aşırı üretiminde ya da varlığında, bu koruyucu sistem yetersiz kalmakta ve oksidan hasar meydana gelmektedir (14).

SOR, doğrudan solunum yolu düz kas kontraksiyonuna, doku harabiyetine, damar geçirgenliğinde artışa, bronş aşırı duyarlılığına ve medyatör salımına neden olmaktadır (15).

Ayrıca SOR, mast hücrelerinden histamin salımına ve hava yolu epitel hücrelerinden mukus salgılanmasına neden olmaktadır (16).

Serbest radikaller lipitler, proteinler ve DNA gibi molekülleri etkileyerek lipit peroksidasyonuna, protein oksidasyonuna ve DNA hasarına yol açmaktadır. Son yıllarda protein oksidasyonu ve DNA hasarı oksidatif stresi belirlemede giderek önem kazanan göstergeler olmuştur (17).

Oksijen radikalleri, oksidatif yarıma ile DNA hasarına yol açabilmektedir. Özellikle pirimidinlerden olan timin en hassas yapıdır. DNA zincirlerinin kopması, DNA çift sarmalı ayrılması sonucu hücrede mutasyonlar ve ölüm gelişebilmektedir (18).

Bronşektazide DNA hasarı ve bunun oksidatif stresle ilişkisini araştıran bir çalışma bildiğimiz kadarı ile bulunmamaktadır. Bronşektazi gibi kronik inflamasyonla giden astımda DNA hasarı ve bunun oksidatif stresle ilişkisini araştıran çalışmalar mevcuttur (19,20).

Bu bilgilerin ışığında planlanan bu araştırmanın amacı kistik fibrozis dışı bronşektazili çocuklarda lökositlerde DNA hasarını ve oksidatif ve antioksidatif metabolizma ile ilişkisini ortaya koymaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Bronşektazi

2.1.1. Bronşektazi Tanımı

İlk olarak 1819'da Fransız doktor René Laënnec tarafından tanımlanan bronşektazi; bronş duvarındaki elastik ve musküler yapıların tekrarlayan enfeksiyon ve inflamasyon olaylarına bağlı olarak harabiyeti ve hava yollarının genişlemesi ile seyreden kronik bir hastalıktır (21).

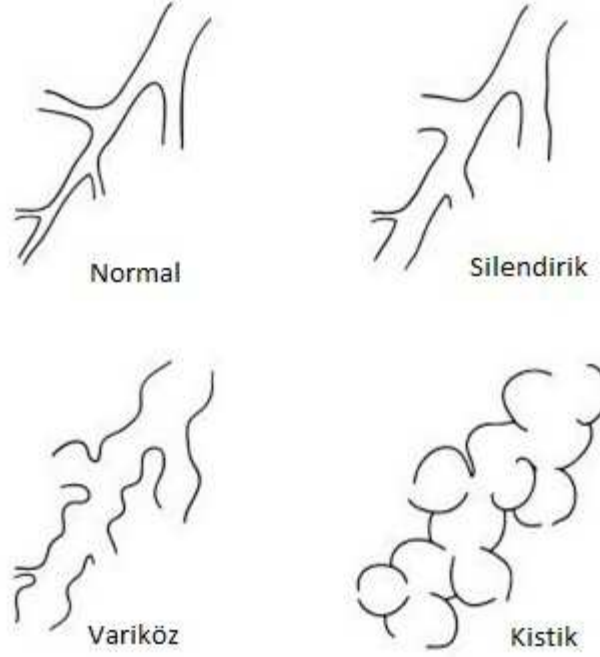
Bronşektazi gelişmiş ülkelerde nadir olarak görülmekle birlikte gelişmekte olan ülkelerde hala önemli bir morbidite sebebidir. Bronşektazinin görülme sıklığı ile ilgili yeterli veri bulunmamaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde insidansı kabaca 10-50/10.000 olarak bildirilmekle birlikte insidans ve prevalansı hakkında çok sağlıklı bilgiler yoktur (22). Bununla birlikte tanı ve nedene yönelik çalışmaların sadece ciddi bulgu ve şikayetleri olan hastalarda yapıldığı; risk faktörü taşıdığı halde şikayetsiz ya da çok az şikayeti olan hastaların bronşektazi tanısı almalarının geciktiği unutulmamalıdır (23). Geçen yüzyılın son bölümlerinde, bronşektazi sıklığının gelişmiş ülkelerde düşük olduğu bildirilmiştir (24). Tahmin edilen bronşektazi insidansı 1,3/1000'dir (25). 1994 yılında Royal Brompton National Heart and Lung Hospital da solunum yolu yakınmaları ile başvuran 4000 çocuk araştırılmış sadece %1 inde kistik fibrozis dışı bronşektazi tesbit edilmiştir (26). İngiltere'de yapılan bazı sıklık belirleme çalışmalarında; aşılama programlarının iyileştirilerek kızamık, boğmaca, tüberküloz gibi hastalıkların kontrolünün sağlanması, solunum yolu enfeksiyonlarının yeterli ve uygun antibiyotiklerle tedavi edilmesi, altta yatan nedene yönelik zamanında ve detaylı tetkiklerle tedavinin sağlanması gibi faktörlerin hastalığın görülme sıklığını belirgin olarak azalttığı görülmüştür (27,28).

Ülkemizde ise tekrarlayan, iyi tedavi edilmeyen alt solunum yolu enfeksiyonları ve yüksek akciğer tüberkülozu prevalansı nedeniyle bronşektazi hala yaygın bir hastalık olarak görülmektedir (29).

Gelişmekte olan ülkelerdeki çocuklarda bronşektazinin insidans ve prevalansı hakkında yeterli veri olmamasına rağmen, gelişmiş ülkelerin yoksul halkının yoğunlukta olduğu bölgelerdeki veriler kullanılabilir. Gelişmekte olan ülkelerdeki pediatrik bronşektazinin gerçek insidans ve prevalans değerleri için acilen epidemiyolojik çalışmalara ihtiyaç vardır (30).

2.1.2. Patoloji

Bronşektazinin morfolojik sınıflaması yaklaşık 50 yıl önce Reid tarafından yapılmıştır (31). Hastalığın erken evrelerinde; elastik dokunun bölgesel olarak harabiyeti, ödem ve inflamatuvar hücrelerin çevre parankime göç etmesi sonucu, geri dönüşümlü de olabileceği düşünülen; *silendirik*, *fusiform* ya da *tubuler bronşektazi* adı verilen ve sadece genişlemiş hava yolunun görüldüğü form oluşur. Olay ilerledikçe inflamatuvar hücre göçünün devam etmesi, bronş düz kas harabiyeti ve destek kıkırdak dokuların yıkımına bağlı olarak; *variköz* ya da daha ağır bir form olan; *sakküler* veya *kistik bronşektazi* gelişir. Variköz bronşektazide dilate hava yolları boyunca yer yer daralmış alanlar bulunurken, sakküler bronşektazide genişlemiş hava yolları; büyük kistler, kesecikler veya üzüm salkımları şeklinde sonlanır (Şekil 1).



Şekil 1. Bronşektazinin formları

Geçmişte bronşektazinin oluşum şekilleri ile ilgili olarak 4 farklı görüş öne sürülmüştür (32). *Sekresyon teorisinde*; koyu sekresyonlar hava yolunu tıkar ve genişletir, obstrüksiyon geçse bile dilatasyon devam eder. *Atelektazi teorisi*; bronşu saran parankimin herhangi bir sebeple kollabe olmasına bağlı olarak artan negatif intraplevral basıncın bronş dilatasyonuna neden olduğunu savunmaktadır. Buna benzeyen *traksiyon teorisinde*; akciğer parankiminin

skarlaşması ve fibrozisi bronş duvarına bir çekim kuvveti uygulamaktadır. Günümüzde en çok kabul gören ve hayvan deneyleri ile ispatlanmış tek teori olan *enfeksiyon teorisinde*; ise her bronşektazinin oluşumunda enfeksiyon ve buna verilen inflamasyon yanıtı temel faktördür.

Bronşektazi esas olarak bakteri kaynaklı mikroorganizmaların sebep olduğu yoğun hava yolu inflamasyonu ile karakterizedir. Erken patolojik değişikliklere ilişkin çalışmalar bulunmamaktadır (33).

Temeldeki patoloji halen net değildir. Bronşektazi gelişiminin iyi tanımlanmış modeli Cole tarafından açıklanan 'Kısr Döngü Hipotezi' dir (34). Bu hipoteze göre solunum yolundaki viral enfeksiyonlar mukosilyer klirensi bozarak enfeksiyonlara neden olmaktadır. İnflamasyona neden olan enfeksiyöz patojenler ile beraber mukosilier fonksiyon bozulması; bakteriyel çoğalma ve ağır inflamasyon ile sonuçlanır. Böylece kendi kendini devam ettiren döngünün ilerleyici akciğer hasarına neden olduğu tesbit edilmiştir. Bu modelde birincil vurgu mukosilyer klirensi yapılmıştır. İmmün disfonksiyon potansiyel olarak solunum yolu enfeksiyonuna izin vererek ilerleyici hasara yol açabilir.

2.1.3. Etiyoloji

Etyolojik faktörler (Tablo 1) arasında enfeksiyöz sebepler en geniş yeri kapsamaktadır. Tüm araştırmalara rağmen bronşektazi vakalarının %30-50'sinde sebep bulunamamaktadır (35,36).

Tablo 1. Bronşektazi sebepleri

**İdyopatik*

**Konjenital*

Bronş kıkırdağında eksiklik (Williams-Campbell sendromu)

Konjenital trakeobronkomegali (Mounier-Kuhn sendromu)

Sarı tırnak sendromu

Ektopik bronkus

Sekestrasyon

Ehlers-Danlos sendromu

Marfan sendromu

**İnflamatuvar*

Kistik fibrozis

Silyer diskinezi

İmmün yetmezlik

Hipogamaglobulinemi -Ciddi Kombine İmmun Yetmezlik

-Sık Değişken İmmun Yetmezlik

-İmmun Globulin Alt Grup Eksikliği

-IgA Eksikliği

Nötrofil disfonksiyonu -Schwachmann-Diamond sendromu

-Kronik granulomatöz hastalık

-Chediak-Higashi sendromu

-Job sendromu

Kompleman eksiklikleri

Astım

Allerjik bronkopulmoner aspergilloz

Kronik aspirasyon

Yeme-yutma disfonksiyonu

GÖRH

α 1 antiproteaz eksikliği

Otoimmün hastalıklar(JRA,SLE,FMF,İBH)

**Post enfeksiyöz*

Tüberküloz

Kızamık

Boğmaca

Virüsler (adenovirus, influenza, HIV)

Nekrotizan bakteriyel pnömoniler (Pseudomonas, klebsiella, staphylacoccus)

**Post obstrüktif*

Yabancı cisim

Dıştan bası

Tümör

**Diğer*

Young sendromu (Bronşektazi ve azoospermi)

İnhalasyon hasarı

Bronşiolitis obliterans ve organize pnömoni

2.1.4. Semptom ve Bulgular

Bronşektazili çocuklar balgamın eşlik ettiği öksürük ile başvurabilirler. Ancak ilerlemiş hastalık varlığında bile öksürük devamlı olmayabilir ve hasta balgam üretemeyebilir (37).

Solunum yollarındaki yoğun mukus artışıyla beraber balgamlı öksürük; küçük havayollarından ziyade büyük hava yollarının tutulduğunu gösterir (37). Bir uzmana sevk edilen bronşektazili 136 çocuk geriye doğru incelendiğinde en sık sebebin tekrarlayan akciğer enfeksiyonları olduğu görülmüştür (38). Buna ek olarak kronik öksürük %35, tekrarlayan wheezing %10 ve kalıcı rinit, tekrarlayan otitis media, büyüme geriliği ve egzersiz intoleransı %5 ve daha az hastada saptanmıştır (38). Bronşektazi hastalarında hemoptizi ilerleyen dönemlerde ortaya çıkmaktadır (39). Kronik öksürüğü (6 haftadan uzun) olan çocuklarda bronşektaziye yol açabilecek bir durum açısından dikkatli olunmalıdır (40,41).

Bronşektazili çocuklarda özellikle erken dönemde fizik muayene bulguları tesbit edilemeyebilir (42). Fizik muayenede boy-kilo persentilleri, çomak parmak varlığı, deride mantar enfeksiyonları, kulak ve sinüs enfeksiyonları, dektrokardi, lokalize (yabancı cisim, yapısal akciğer anomalisi) veya yaygın (aspirasyon, enfeksiyon) hışıltı veya krepitasyon varlığı dikkatle incelenmelidir (35,36,38,40-43).

Bronşektazi hastaları çoğunlukla okul öncesi ve erken okul çocukluğu döneminde tanı almaktadır (23). Hastalar semptom ve bulgularının (Tablo 2) başlamasından ortalama 3 yıl sonra tanı alabilmektedirler (44).

Tablo 2. Çocukluk bronşektazisinde başvuru semptomları ve klinik bulgular

SEMPTOM	%	KLİNİK BULGULAR	%
Öksürük	97	Krepitasyon	82
Balgam	46	Matite perküsyon	47
Wheezing	21	Çomaklaşma	46
Göğüs Ağrısı	20	Solunum seslerinde azalma	35
Hemoptizi	14	Bronşiyal sesler	19
Dispne	7.2	Siyanoz	5

“Wheezing” ve dispne başlangıçta sadece akut alevlenme ile birlikte görülmekte iken bronşektazi ilerledikçe kalıcı bir hal alır (21).

Balgam erişkinlerde çok daha fazla görülen bir şikayet olduğu halde çocuklar belli bir yaştan önce balgam çıkaramamaktadırlar. Şikayetler arasında ayrıca kilo kaybı, iştahsızlık da yer almaktadır.

İlerlemiş bronşektazide göğüs deformiteleri, lordoz, omuzların öne doğru eğilmesi gibi duruş bozuklukları ve karın şişliği görülebilir. Parmaklardaki çomaklaşma bronşektazili çocukların % 3-51'inde saptanmaktadır ve hastalığın süresi, yayılımı ve enfeksiyöz alevlenmelerin sıklığı ile ilişkilidir (23).

2.1.5. Tanı

Bronşektazi tanısı; anamnez ve fizik muayene ile klinik olarak konulabilir. Kesin tanı koydurucu olmasa da akciğer grafisindeki değişiklikler de tanıda yardımcı olabilir. Akciğer grafisinde bronşlarda genişleme, volüm kaybı, bronş duvarlarında kalınlaşma, bal peteği belirtisi, havalanma artışı ve kistler görülebilir (23). Tamamen normal bir akciğer grafisi ise hemen her zaman ileri derecedeki bronşektazi olasılığını dışlamada yardımcıdır (45).

Anatomik yerleşimin kesin saptanması için bronkografi veya bilgisayarlı tomografi gereklidir. Günümüzde yüksek rezolüsyonlu bilgisayarlı tomografi (YRBT) bronkografinin görevini üstlenmiş ve tanıda “altın standart” haline gelmiştir (28).

Bronşektazili tüm hastalar altta yatan neden açısından araştırılmalıdır. Klinik tabloya göre immun yetmezlik, kistik fibrozis, kronik aspirasyon, siliyer bozukluklar, konjenital anomaliler ve olası diğer sebepler dışlanmaya çalışılmalıdır. Viral ve bakteriyolojik inceleme tedaviyi yönlendirmede faydalı olabilir. Fleksibl fiberoptik bronkoskopi mikrobiyolojik ve siliyer çalışma için örnek alınmasında, diğer tedavilere cevap vermeyen inatçı atelektazilerin açılmasında, yabancı cisim olasılığını dışlamada ve endobronşial anatomiye tanımlamada çok yarar sağlayan bir yöntemdir (28). Bronşektazi tanısı ve etyolojisine yönelik tetkikler tablo 3'de belirtilmiştir (3).

Tablo 3. Bronşektazili çocukta altta yatan hastalığın tanısı için yapılması gereken tetkikler

**Radyoloji*

PA akciğer grafisi

YRBT

Baryumlu bronkogram

**İmmunoloji*

Hemogram ve periferik yayma

İmmunoglobulinler ve IgG subgrupları, protein ve polisakkarid antijen cevapları

Hücrel immunité (ppd, FACS, NBT, kemotaksis, ABPA'dan şüpheleniliyorsa Aspergillus cilt testi)

CH50,C3,C4

**Diğer*

Ter testi

Fleksibl bronkoskopi

Lavaj

Biyopsi

Silya Değerlendirmesi

Elektron mikroskopisi

Salınım frekansı

Salınım paterni

ÖMD

PH metre

Viral seroloji

2.1.6. Bronşektazide Yüksek Rezolüsyonlu Akciğer Tomografisi (YRBT)'nin Yeri

YRBT; bronşektazi tanısı, hastalığın yaygınlık ve evresinin belirlenmesi, ilerleme ya da gerilemesinin takibi ve tedaviye yanıtı gösterme açısından kullanılan, noninvazif, en iyi tetkiktir (28, 46, 47). Son yıllarda tanıda bronkografinin yerini YRBT almış olup duyarlılığı %84, özgüllüğü ise %82 olarak saptanmıştır (48). Diğer tekniklerin duyarlılığının düşüklüğünden dolayı YRBT bronşektazi tesbitinde favori teşhis yöntemi olmuştur (49,50). YRBT akciğer filmindeki bulguların netleşmesini ve direk grafide görülmeyen bulguların tespitini kontrast maddeye ihtiyaç duyulmaksızın sağlar. Uygulanan radyasyon dozu spiral BT'den düşüktür. Bronşektazinin YRBT bulguları; hava yolu genişlemesi (51), bronş gölgesinin normalde olması gereken plevraya doğru daralarak kaybolması özelliğinin görülmemesi (52,53), hava yolu boyunca variköz darlıklar, bronş sonunda kistler ve amfizemli olgularda periferde doğru görülen büllerdir. Özgün olmayan bulgular; genişlemiş hava yolu etrafındaki akciğer dokusunun konsolidasyon ve infiltrasyonu, bronş duvarı kalınlaşması, mukus tıkaçları, büyümüş lenf düğümleri (54), damarsal gölgelerin hava yolları ile eş zamanlı harabiyetine bağlı azalmasıdır (55).

Bronşektazik bölgeler akciğerlerin genellikle alt zonlarında ve özellikle sol alt lobda yerleşmiştir (Tablo 4) (56-58). Yerçekiminin etkisi ile üst lobların mukosilyer temizliği daha iyi olacağı için üst loblar daha az tutulurlar. Multilober tutulum da sık görülmekte olup, en sık sol alt lob ile lingula birlikte etkilenirler.

Tablo 4. Çocukluk bronşektazisinde etkilenen akciğer bölgelerin dağılımı

<u>Etkilenen Lob</u>	<u>%</u>
Sağ Akciğer	
Üst lob	21
Orta lob	47
Alt lob	51
Sol Akciğer	
Üst lob	14
Lingula	55
Alt lob	72

YRBT bronşektazi etyolojisine yönelik bilgi de verebilir. Örneğin bilateral üst lobları etkileyen bronşektazi; kistik fibrozis, allerjik bronkopulmoner aspergilloz (ABPA) düşündürürken, ünilateral üst lob tutulumu; tüberkülozu, bilateral alt lobların tutulumu; viral enfeksiyon, siliyer hasarı düşündürebilir. Bilateral yaygın bronşektaziler ise kistik fibrozis gen mutasyonları açısından mutlaka araştırılmalıdır (59).

Auckland'da kistik fibrozis dışı bronşektazili 56 çocuğun YRBT'si hastalığın ağırlığı ve yaygınlığı açısından retrospektif olarak değerlendirilmiş ve solunum fonksiyon testleri ile ilişkisi incelenmiştir. Birinci saniyedeki zorlu ekspiratuar volüm (FEV_1) ve zorlu vital kapasitenin %25'i ile %75'i arasındaki zorlu ekspiratuar akım ($FEF_{\%25-75}$) ile YRBT skorları arasında anlamlı ilişki bulunmuştur. Ayrıca çomaklaşma ve göğüs deformitesi olan hastaların YRBT'lerinde hastalığın daha yaygın olduğu görülmüştür (60).

Otuzdört kistik fibrozisli çocuğun YRBT'lerinin SFT, balgam sitoloji ve IL-8 düzeyleri ile ilişkisinin incelendiği bir çalışmada ise YRBT skorlarının SFT ile orantılı ancak balgam değerleri ile ilişkisiz olduğu görülmüştür (61). Avustralya'dan yapılan bir çalışmada ise kistik fibrozis dışı bronşektazili 65 çocuğun YRBT skorları ile spirometre bulguları arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır (62).

2.1.7. Bronşektazide Solunum Fonksiyon Testleri

Solunum fonksiyon testleri hastalık belirgin şekilde ilerlemedikçe veya iyi sınırlı olduğu sürece bozulmaz. Erken dönemde düşük akciğer volümlerinde akım azalır (örn. % 50 vital kapasitede zorlu ekspiratuar akım- FEF_{50}). Hastalık ilerledikçe bir saniyedeki zorlu ekspiratuar volüm (FEV_1) ve FEV_1/FVC oranı düşer. Ciddi obstrüksiyonlarda ayrıca zorlu vital kapasite (FVC) de azalır.

Pletismografik olarak ise rezidüel volüm (RV) ve RV/TLC artar (50,63). Spirometrik olarak özellikle obstrüktif bozukluk görülür. Bu durum bronşektazinin tipi ile ilgili değildir. Hastalık ilerledikçe restriktif bozukluk tespit edilir (28). Obstrüksiyon; yapısal hava yolu hasarı, sekresyonların varlığı, bronş hiperreaktivitesi ile açıklanır (64). Murphy ve arkadaşlarının (65) yaptığı bir çalışmada bronşektazili hastaların yaklaşık % 40'ında beta adrenerjik agonist sonrası yüzde beklenen ortalama FEV_1 değerlerinde ortalama % 15 ve daha fazla artış olduğu görülmüştür.

Bronşektazide reaktif hava yolu komponenti yoksa obstrüktif solunum fonksiyonlarının bronkodilatör cevabı son derece düşüktür (3). Bronşektazinin astıma bağlı olarak gelişmesi prognozunu kötü olacağına işaret eder.

2.1.8. Bronşektazide Hava Yolu İnflamasyonu

Bronşektazi, kronik bronşit ve kistik fibrozis gibi akciğer hastalıklarında nötrofillerin çoğunlukta olduğu bir inflamasyon görülür. Bronşektazinin patogenezi ile ilgili son dönemde kabul edilen teorilere göre hava yolunun farklı mikroorganizmalarla kolonize olması inflamatuvar olayı başlatmaktadır. İnflamasyona yanıt olarak nötrofiller hava yoluna göç ederler. Makrofajların TNF- α üreterek nötrofilleri hava yoluna çektiği görüşü ileri sürülmüştür (66).

Nötrofillerin intravasküler kompartmandan inflamasyon bölgesine göçü endotel hücrelerinin yüzeyinde eksprese edilen adezyon molekülleri ve lökositlerdeki muadillerinin arasındaki bir dizi koordine etkileşimleri içeren birkaç aşamalı süreçler tarafından düzenlenir. Adezyon moleküllerinin üç ailesi bu sürece aracılık eder; Bunlar selektinler, CD11/CD18 olarak adlandırılan integrinler ve intersellüler adezyon molekülü (ICAM)-1, vasküler adezyon molekülü (VCAM)-1 ve CD47'i içeren immünglobulin süper ailesidir (67,68).

Hava yollarında biriken nötrofiller, nötrofil elastazı ve myeloperoksidaz gibi dokulara hasar veren pek çok oksidan madde salgırlar (69). Hava yollarında bakterilerin kronik kolonizasyonu, kalıcı inflamatuvar yanıt ve ilerleyici doku hasarı birbirini takip eder. (Şekil 2)

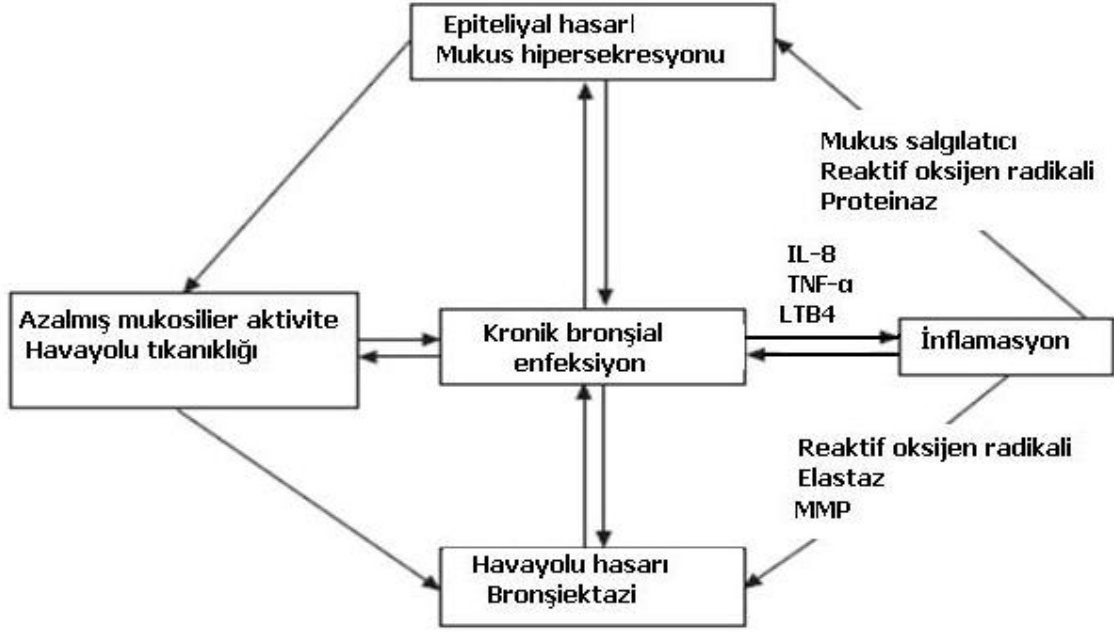
Angrill J. ve arkadaşlarının (70) yaptıkları çalışmada stabil bronşektazili 49 hasta ve 9 kontrolden bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvı örnekleri alınmış; nötrofil sayısı, kültür, nötrofil elastazı, myeloperoksidaz, TNF- α , IL-8, IL-10, IL-6 düzeyleri karşılaştırılmıştır. Çalışmada şu sonuçlar bulunmuştur ;

- 1) Bronkoalveolar lavaj kültürü steril olan bronşektazi hastalarının hava yollarında bile aktif nötrofilik inflamasyon bulunmakta ve bu durum kolonize bir mikroorganizmanın varlığında daha da belirginleşmektedir.
- 2) Nötrofil sayısı, nötrofil elastazı, myeloperoksidaz, TNF-alfa, IL-8 düzeyleri hasta grubunda belirgin olarak yüksektir.
- 3) İnflamasyon uyararı olan bakteriyel yük ne kadar fazla ise inflamasyon cevabı o kadar fazladır.
- 4) İnflamasyon yanıtı ne kadar yüksek ise solunum fonksiyonlarındaki bozulma (yüzde beklenen ortalama FEV₁'deki düşüklük) da o kadar belirgindir.
- 5) Bronşiyal inflamasyon yanıtı akciğerde sınırlanmış olup, bu sistemik dolaşıma yansımaz.

Hava yollarının vereceği yanıt inflamasyonu arttıran ve azaltan moleküller arasındaki denge ile belirlenir (71-73). İnflamasyonu artıran mediatörler arasında en önemlileri nötrofillerden salgılanan; IL-8, IL-1 β ve TNF- α 'dır. İnflamasyonu azaltan IL-6 ve IL-10 ise

IL-1 β ve TNF- α 'nın doğal antagonistlerinin üretilmesine öncülük eder (74,75). On dört erişkin stabil bronşektazi hastasından ve 15 kontrolden alınan endobronşiyal biyopsi örnekleri monoklonal antikolar ile boyanarak incelendiğinde lamina propriadaki nötrofil, makrofaj sayıları ve TNF- α düzeylerinin kontrollere göre anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür (9). Nötrofil yoğunluğu ile yüzde beklenen ortalama FVC değerleri arasında negatif korelasyon bulunmuştur. Bronşektazi, pnömoni ve idyopatik pulmoner fibrozislilerden oluşan hastalarda nötrofilik akciğer inflamasyonu incelenmiştir. Onbir bronşektazi, 30 pnömoni ve 15 idyopatik pulmoner fibrozis hastası ve 12 sağlıklı kontrolden BAL sıvısı alınarak; proinflamatuvar enzimlerden myeloperoksidaz ve elastaz düzeyleri ile antiinflamatuvar olan α 1-proteinaz inhibitörü düzeyi ve elastaz inhibisyon kapasiteleri ölçülmüştür. Hasta gruplarında nötrofil aktivitesini gösteren myeloperoksidaz ve elastaz seviyeleri sağlıklı kontrollere oranla yüksek tespit edilirken, en yüksek inflamatuvar değerlere bronşektazi hastalarında rastlanmıştır (76).

Akciğere sürekli polimorf hücre göçü; inflamasyonun ve kronik akciğer hasarının devamını sağlar. Nötrofil göçü için kemoatraktanların varlığı gerekmektedir. IL-8'in önemli bir kemoatraktan olduğu düşünülmektedir. Mikami ve arkadaşlarının (77) çalışmasında balgamın makroskopik görüntüsünün (mukoid, mukopürülan, pürülan) kemotaktik aktivite ve IL-8 düzeyi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Çalışmaya göre kemotaktik aktivite ve IL-8 düzeyi antibiyotik tedavisi ile düşmektedir. IL-8'in özellikle akut alevlenmelerdeki kemoatraktan rolü üzerinde durulmaktadır. IL-8'in kronik süpüratif akciğer hastalıklarındaki rolünü inceleyen diğer bir çalışmada kistik fibrozis, bronşektazi ve kronik bronşitli hastaların balgamlarında IL-8 düzeyleri ve nötrofil kemotaktik aktiviteleri değerlendirilmiştir. Sırasıyla bronşektazi, kistik fibrozis ve kronik bronşitli hasta grubunda yüksek bulunan IL-8, monoklonal anti IL-8 antikoru ile bloke edildiğinde hastaların balgam kemotaktik aktiviteleri % 75-98 oranlarında azalmıştır. Bu bulgulardan yola çıkarak araştırmacılar bahsedilen hastalık gruplarında IL-8'in oldukça önemli bir nötrofil kemoatraktanı olduğunu öne sürmüşlerdir (7). KOAH hastalarında IL-8 artışı TNF- α 'ya göre astımlı hastalarda olduğundan daha belirgindir (78). Nötrofillerden açığa çıkan bu maddelerin hava yolu hasarı ve artmış hava yolu reaktivitesine sebep olduğu gösterilmiştir (79). Bronşektazide inflamasyon önemli ölçüde akciğerde sınırlı olmakla birlikte bu hastalarda kanda lökosit sayısı, serum CRP, eritrosit sedimentasyon hızı gibi sistemik inflamasyon parametrelerinin de yüksek olabileceğini ve bu durumun hastalığın ağırlığı, seyri ve hastanın genel sağlık durumu ile korele olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (80).



Şekil 2. Kronik akciğer enfeksiyonu sırasında oluşan olayların kısır döngüsü. IL: interlökin; TNF: Tümör nekrozis faktör; LT: Lökotrien; MMP: Matriks metaloproteinaz

2.1.9. Akut Alevlenme

Bronşiektazi ile ilgili en geniş prospektif çalışma sonuçlarına göre aşağıda belirtilen durumlardan dördünün varlığı akut alevlenme olarak kabul edilmiştir (81).

- 1- Balgam miktarında artış
- 2- Solunum sıkıntısında artış
- 3- Öksürükte artış
- 4- Ateş ($\geq 38.0^{\circ}\text{C}$)
- 5- “Wheezing”de artış
- 6- Halsizlik, yorgunluk, egzersiz kapasitesinin azalması
- 7- Solunum fonksiyon testlerinde düşme
- 8- Akciğer grafilerinde yeni infiltrasyon
- 9- Fizik muayenede akciğer seslerinde değişiklik

Akut alevlenme tedavisinde temel ilkeler; öksürük kontrolü, postural drenaj, göğüs fizyoterapisi, sekresyonların inceltilmesi, bronkodilatör ve inhale steroid verilmesidir (1).

2.1.10. Bronşektazi Tedavisi

Bronşektazi tedavisinde; alevlenmelerin erken tespiti ve uygun antibiyotik tedavisi, aşırı inflamatuvar yanıtın baskılanması, bronşiyal sekresyonların uzaklaştırılması, bronş kanamalarının kontrolü, yeterli beslenme ve enfeksiyon, kanama ve inatçı semptom odağı oluşturan hasarlı segmentlerin cerrahi olarak uzaklaştırılması yer almaktadır (1,82). Hastalığın altta yatan sebebinin bulunması ve tedavisi ilerleyici sürecin durdurulması açısından önemlidir (örneğin; humoral immün yetmezlikte intravenöz immunglobulin tedavisi, konjenital anomalilerin cerrahi olarak düzeltilmesi gibi) (45). Göğüs fizyoterapisi ve postural drenaj endobronşiyal sekresyonların uzaklaştırılmasına yardımcı olur. Bu amaçla pek çok yardımcı araç da geliştirilmiştir.

Mukolitik maddelerin kullanılması belirgin fayda sağlamamaktadır. Örneğin N-asetil-sistein mukus tabakasına yeterince etki edemediği gibi rahatsızlık hissi uyandırmaktadır. DNase tedavisi kistik fibrozis için onaylanmış bir tedavi olmakla birlikte bronşektazide kullanılmamaktadır. Altı ay süren bir çalışmada DNase verilen 173 bronşektazi hastasında, 176 kontrol bronşektazi hastasına göre daha çok akut alevlenme ve de solunum fonksiyon testlerinde daha fazla bir düşüş olduğu görülmüştür (1). Rekombinan insan DNase'nin tedavideki etkinliği gösterilememiştir (81,83).

Bronkodilatörler bronşektazide faydalı olabilmekle birlikte kullanımlarına solunum fonksiyon testlerine göre karar verilmelidir. Hastalarda görülen hava yolu obstrüksiyonu önemli ölçüde geri dönüşümsüz olduğu halde fizyoterapi öncesi bronkodilatörlerin kullanılması sekresyonların atılmasını kolaylaştırabilir. Bu tedavi bazı hastalarda ise bronkomotor tonusu azaltarak öksürük refleksini azaltabilir ve böylece sekresyonlar birikerek solunum fonksiyonlarının bozulmasına sebep olur (28). Literatürde antikolinerjik ve uzun etkili bronkodilatör ajanların bronşektazi tedavisinde kullanılabilirliğini ispatlayan çalışmalar bulunmamaktadır.

Akut enfeksiyöz alevlenmelerde hızlı ve etkin antibiyotik tedavisi çok önemli bir konudur. Uygun antibiyotiğe bakteriyel kültür ve hassasiyet çalışmalarına göre karar verilmelidir. S. pneumonia ve H.influenzae hastaların balgamlarından sıklıkla üretilen mikroorganizmalardır. Balgamda mukoid Pseudomonas aeruginosa tespit edilmesi kistik fibrozis araştırmasını gerektirir. Bronşektazili hastaların balgamlarında üretilen mikroorganizmalar tablo 5'de gösterilmiştir (84).

Tablo 5. Bronşektazili hastaların balgamlarında üretilen mikroorganizmalar

<u>Mikroorganizma</u>	<u>Sıklık</u>
Haemophilus influenza	%37
Pseudomonas aeruginosa	%29
Staphylococcus aureus	%13
Streptococcus pneumonia	% 8
Klebsiella	% 8
Enterobacter	% 4

Bronşektazide uzun dönem ya da inhale antibiyotik tedavisinin etkinliği tartışılmaktadır (85,86). Fakat enfeksiyonların engellenmesi açısından tüm bronşektazili çocuklara rutin olarak pnömokok ve H.influenza aşuları yapılmalıdır.

Sık tekrarlayan akciğer enfeksiyonları sebebiyle artmış olan katabolizma bronşektazide iyi beslenmeyi tedavinin bir parçası olarak zorunlu kılmaktadır.

Bronşektazide cerrahi olarak akciğer eksizyonu yoğun tıbbi tedaviye yanıtız olgularda uygulanmaktadır.

2.1.11. Bronşektazi Komplikasyonları ve Prognoz

Başlıca komplikasyonlar; hemoptizi, masif pulmoner kanama, amfizem, ampiyem, pyopnömotoriks, metastatik beyin abseleri, kronik solunum yetmezliği ve kor pulmonaledir. Altta yatan immun yetmezlik, kistik fibrozis gibi ilerleyici bir hastalık olmadıkça çocukluk bronşektazisi 10-20'li yaşlarda daha iyi olma ve daha sonraki yıllarda ise stabil seyretme eğilimindedir (21).

2.2. DNA Hasarı

Canlının bütün genetik bilgilerini deoksiribonükleik asit (DNA) molekülü ihtiva eder. DNA'da meydana gelen olumsuz değişiklikler kendisinden sonra gelen nesillere aktarılan genetik bilgiyi de değiştirebilir. İçinde bulunduğumuz ortamda meydana gelen olumsuzluklar, canlılara ait DNA moleküllerinde hasara, oluşan hasar tamir edilemediği takdirde kontrollü hücre ölümüne veya kansere kadar giden hastalıklara neden olabilmektedir. DNA hasarını oluşturan nedenlerin en başında, çevresel şartlar, sürekli artan sanayi ve teknolojik atıklar,

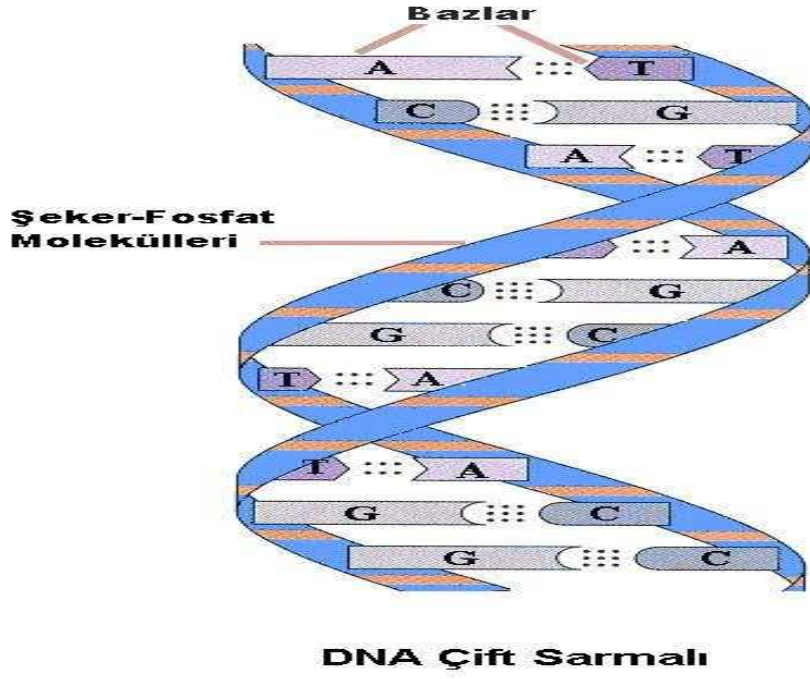
eksoz dumanı, sigara gibi faktörler gelmektedir. Çevresel faktörlerle birlikte alınan diyetel faktörlerin de DNA hasarı oluşumunda önemli rollerinin olduğu bilinmektedir. Diyetle alınan bazı gıdalar DNA hasar oluşumunu artırırken, bazı gıdaların DNA hasar oluşumunu önlediği bilinmektedir.

Canlının her bir hücresinde günde onbinlerce DNA molekülü hasara uğramakla birlikte oluşan hasar, DNA tamir mekanizmaları ile tamir edilmektedir. Normalde hasar ve tamir denge halindedir. Denge hasar lehine bozulduğunda tamir mekanizmaları yetersiz kalmakta, neticede hücre ölümü veya mutasyon, delesyon, insersiyon ve kanser oluşumu gibi DNA molekülünde kalıcı değişiklikler olabilmektedir. DNA hasarını önlemenin yolu bir taraftan DNA molekülünü hasara uğratan etkenlerden uzak dururken diğer taraftan DNA hasar oluşumunu önleyici tedbirler almaktır.

2.2.1. DNA'nın Yapısı ve Fonksiyonu

İlk defa A.F.Miescwer adlı bir araştırmacı 19. yüzyılın sonlarında hücre çekirdeğini incelerken DNA molekülünü fark etmiştir. J Watson, Cambridge Üniversitesinden Francis Crick ile giriştiği çalışmalar sonuç vermiş ve 1953 yılında Nature dergisinde 900 kelimeden oluşan makalelerinin yayınlanmasıyla bilim adına önemli bir karanlık bölüm aydınlanmıştır. Ancak bu keşif içinde İngiltere King's Kolejinde Kristalograf olarak çalışan Rosalinda Franklin'in de katkısı büyüktür. DNA'nın çift sarmal olduğunun bulunmasında Rosalinda Franklin'in X ışını resimleri kilit rol oynamıştır (87). James Watson 1956'da Harvard Üniversitesi'nde Moleküler Biyoloji ve Biyokimya Profesörlüğüne getirilmiş ve bugün halen hayattadır. 1962 yılında Dr.Crick'le DNA'nın 3 boyutlu yapısını keşfetmelerinden dolayı Nobel ödülüne layık bulunmuştur (88).

Kimyasal olarak DNA, nükleotit olarak adlandırılan basit birimlerden oluşan iki uzun polimerden oluşur (89,90). Bu polimerlerin omurgaları, ester bağları ile birbirine bağlanmış şeker ve fosfat gruplarından oluşur Merdiven basamaklarının arasında gevşek hidrojen bağlarıyla birbirini çeken pürin ve pirimidin denilen azotlu bazlar bulunur. Bu basamaklar merdivenin kenarındaki şeker moleküllerine bağlıdır. Her bir şeker grubuna baz olarak adlandırılan dört tip molekülden biri bağlıdır (Şekil 3).



Şekil 3. DNA'nın çift sarmallı yapısı

Bu birimlere, timin (T), adenin (A), sitozin (C) ve guanin (G) denir. Bunlar DNA molekülünün bir iplikçliğini oluşturur. İki iplikçik, yani merdivene benzer yapının iki kolu, karşılıklı gelen baz çiftleriyle birbirine bağlanır. Bu iki iplikçik birbirlerine ters yönde giderler. Her baz çifti tek bir şekilde eşleşebilir: Her zaman T ile A ve G ile C birleşir. Sarmaşık dalına benzer her molekül, bir DNA "ipliği"dir. Bu iplikler birbirlerine kimyasal olarak bağlanmış nükleotidlerden oluşur. Nükleotidler ise bir şeker, bir fosfat ve bir de dört çeşit azotlu bazlardan birisinden oluşur. İşte bu nükleotidlerin DNA üzerinde sıralanışı, DNA dizilimini belirler. Genetik şifre de bu dizilimde yer alır.

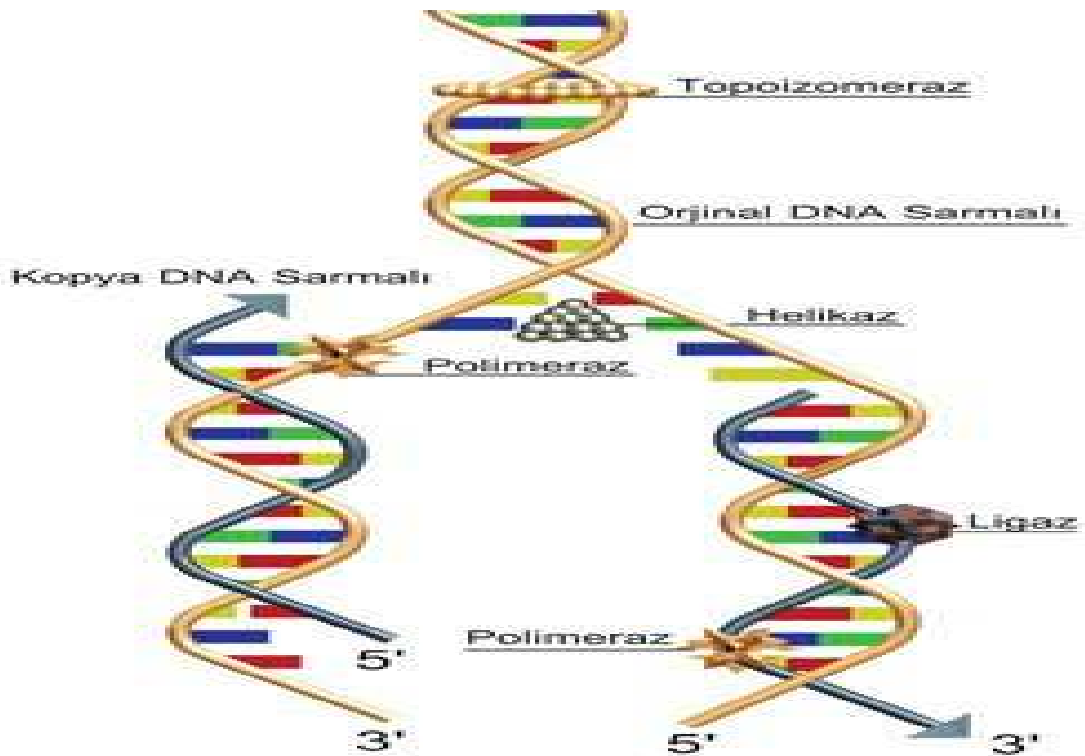
DNA, ökaryotlarda doğrusal kromozomlar, prokaryotlarda ise dairesel kromozomlar içinde bulunur. Kromozomlarda bulunan genler DNA yapısındadır. Her canlı bireyin ve soyunun hayat planı hücre hafızasını meydana getirir. DNA molekülleri şifrelerle kodlanmıştır. DNA'nın yapısına giren bazların (A,T,G,C) her biri şifre sembolü olarak kullanılır. Hayatın dili bu dört harfli alfabeyle DNA moleküllerinde yazılmaktadır. DNA'nın ipliklerinde ard arda gelen üç nükleotit bazı bir mana (şifre) ifade eder. Dört farklı nükleotide arka arkaya 64 şifre kodlanabilir (AAA, AAS, AAG, AGS, vb.). Şifrelerin DNA'daki sıralanışlarının değişmesiyle binlerce mana ifade edilebilir. DNA'nın omurgası boyunca bu bazların oluşturduğu dizi, genetik bilgiyi kodlar. Protein sentezi sırasında bu bilgi, genetik kod aracılığıyla okununca proteinlerin amino asit dizisini belirler. Bu süreç sırasında

DNA'daki bilgi, DNA'ya benzer yapıya sahip başka bir nükleik asit olan RNA'ya kopyalanır. Bu işleme transkripsiyon denir.

Bir hücredeki kromozomlar kümesine onun genomu denir. İnsan genomu 46 kromozom içinde yer alan yaklaşık 3 milyar baz çiftinden oluşur (91).

Protein ve diğer işlevsel RNA molekülleri kodlayan bilgi, gen adı verilen DNA parçalarının dizisinde yer alır. Genlerdeki genetik bilginin aktarılması baz eşleşmesi ile gerçekleşir. Örneğin, transkripsiyon sırasında bir DNA dizisinin ona komplementer bir RNA dizisi olarak kopyalanması, DNA ile doğru RNA nükleotitler arasındaki çekim ile mümkün olur. Protein çevrimi (translasyon) denen süreç sırasında bu RNA dizisine kaşılık gelen bir protein sentezlenirken, RNA nükleotitleri arasında gen ile baz eşleşmesi olur.

DNA hücre bölünmesinin hazırlıkları sırasında kendi kopyasını yapar. Kromozomların ikiye bölünmesi sırasında DNA molekülü kendisinin bir kopyasını yapar, buna replikasyon veya duplikasyon denir. Bu olay yavru kromozomda aynı kısımların bulunabilmesi için gereklidir. DNA'nın kendini eşlemesi esnasında, iki sarmal ipliği bir arada tutan hidrojen bağları adeta bir fermuar gibi açılır (Şekil 4).



Şekil 4. DNA'da replikasyon oluşumu

Açıkta kalan pürin ve pirimidin nükleotitlerin uçları, hücrede önceden sentezlenmiş nükleotitlerle tamamlanır. Böylece birbirinin aynı olan iki DNA meydana gelmiş olur. Hücre bölünmesinde her biri bir hücreye gider. Hücre mekanizması DNA ikili sarmalını birbirinden ayırıp her iki DNA ipliğini de yeni birer ipliği sentezlemek için şablon olarak kullanma yeteneğine sahiptir. Yeni üretilen iplikler öncekilerle hemen hemen tamamen aynıdır, ancak mutasyon adı verilen hatalar oluşabilir. Hücrenin bu özelliğini laboratuvar ortamında taklit eden işleme de polimeraz zincirleme tepkimesi (PCR) adı verilir.

2.2.2. DNA Hasarı Oluşum Nedenleri

Genetik materyalin moleküler bütünlüğünde ekzojen veya endojen faktörlerin etkisiyle meydana gelen tüm değişiklikler “DNA hasarı” olarak adlandırılır. Genom, DNA hasarına neden olan sayısız farklı etkene maruz kalır. Ekzojen kaynaklar içerisinde, güneşten gelen ultraviyole radyasyon, radon bozunumundan kaynaklanan iyonize radyasyon, mantar kaynaklı aflatoksin, yanmış tütün ve birçok kemoterapötüğü sayabiliriz. Endojen kaynaklara örnek olarak, oksidatif metabolizma, DNA'nın spontan değişimleri, immünolojik çeşitliliği oluşturan V(D)J rekombinasyon mekanizmasını (antijen tanıma bölgelerini kodlayan ekson V,D ve J şeklinde üç segmentten oluşur ve bu segmentlerin birçoğu farklı kombinasyonlarla bir araya gelebilir) verebiliriz.

DNA Hasarına Neden Olan Etkenler;

1. Spontan veya kalıtsal oluşan gen mutasyonları

2. Çevresel faktörler

- Ultraviyole Işık
- İyonize radyasyon
- Elektromanyetik dalgalar
- Kimyasal ajanlar: Aflotoksin, benzopren, kemoterapi ilaçları, alkilleyici ajanlar, vinilklorid, v.b
- Sigara, alkol kullanımı
- Hava kirliliği

- Kötü beslenme alışkanlığı

3. Doğal hücrel metabolizmadan kaynaklanan faktörler

- Mitokondriden enerji üretim esnasında oluşan Serbest Radikaller
- Enflamasyon
- Detoksifikasyon işlemleri

Hücre tüm bu DNA hasarlarına farklı metabolik yollar ile cevap verir. Ağır DNA hasarları hücrenin apoptozis yolunu aktive ederek hücreyi ölüme götürür. Hücre, DNA hasarlarını "DNA tamir mekanizmaları" ile tamir edebilir. DNA hasarı ikileşme sırasında tamir edilemezse mutasyona ve sonuç olarak genomik kararsızlığa, kanser ve yaşlanmaya neden olur. DNA tamir sisteminde 100'den fazla gen rol oynar ve bu genlerin kodladığı proteinler tamir mekanizmalarında görev alırlar. Her bir insan hücresinin DNA'sında günde yaklaşık olarak 500.000 adet kodlanmayan veya yanlış kodlamaya neden olabilen hasar meydana gelmektedir.

DNA Hasarı sonunda DNA'nın yapısı ve dahası diğer nesillere aktarılan genetik bilgi değişir. Küçük hasarlar çoğunlukla DNA onarım sistemleri tarafından onarılabilirken, orta derecedeki hasarların birikimi ise mutasyon ve kanser ile sonuçlanabilir.

Yüksek düzeydeki hasarlar ise apoptozisi uyararak "hücre ölümüne" yol açabilir ve böylelikle organizma kendini korumuş olur.

2.2.3. DNA Hasarı Tipleri

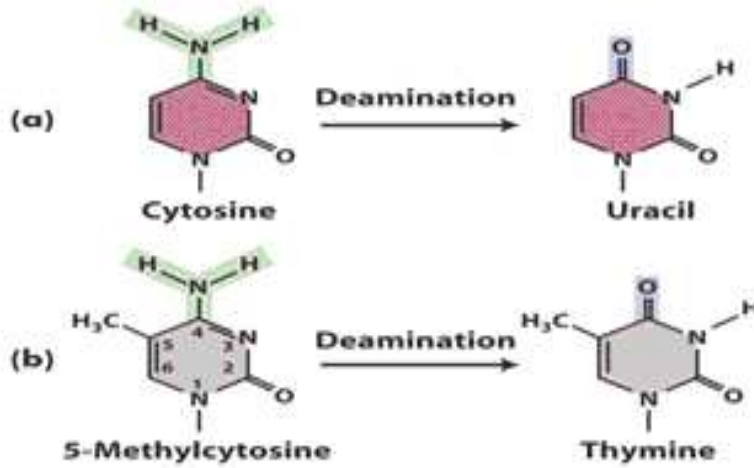
DNA çeşitli farklı mutagenler tarafından hasara uğrayabilir. Bunun sonucunda DNA dizisi değişebilir. Mutagenler arasında, yükseltgen (oksitleyici) etmenler, alkilleyici etmenler ve yüksek enerjili elektromanyetik ışınlar (morötesi ışık ve X ışınları gibi) sayılabilir. DNA'da meydana gelen hasarın tipi mutagenin tipine bağlıdır. Örneğin, mor ötesi ışık timin ikilileri (timin dimerleri) oluşturarak DNA'ya hasar verir (92). Buna karşın, serbest radikaller veya hidrojen peroksit gibi yükseltgen etmenler farklı türden hasar oluşturabilirler; baz değişimi (özellikle guanozin) ve iki iplikçikli kırılmalar gibi (93). Her bir insan hücresinde günde 500 baz yükseltgeyici zarar görür (94, 95). Bu yükseltgeyici hasarlardan en zararlısı çift zincirli kırılmalardır. Çünkü bunların onarımı zordur. Bunlar DNA dizilerinde noktasal mutasyonlara, insersiyonlara ve delesyonlara ayrıca kromozomal translokasyonlara yol açabilir (96).

Başlıca DNA hasar tipleri;

1. Deaminasyon
2. Depurinasyon
3. Alkilasyon
4. T-T and T-C dimerleri oluşumu
5. Replikasyon hataları
6. Çift iplik kırıkları (DSB)
7. Oksidatif hasardır.

2.2.3.1. Deaminasyon

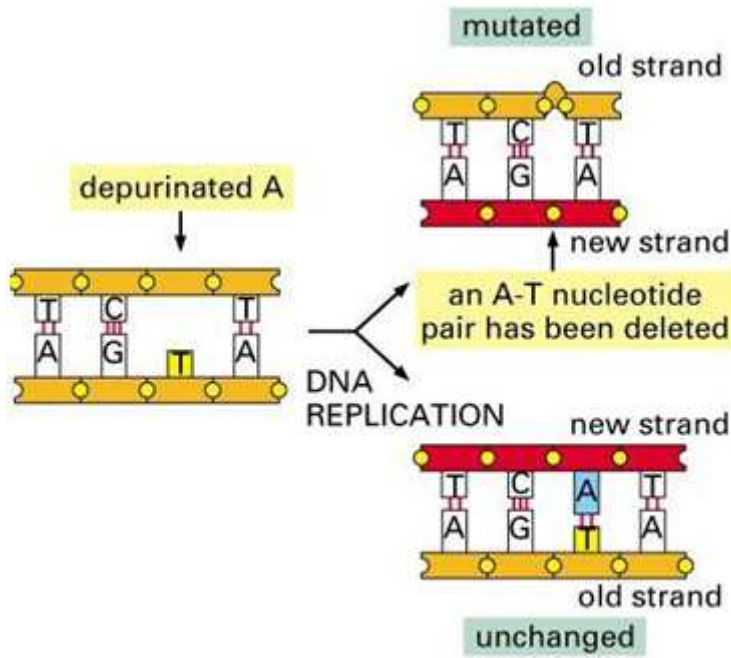
Deaminasyonda, Adenin (A) ve Sitozin (C)'deki bir amino grubu, keto grubuna dönüştürülmektedir. HNO₂ (nitroz asit) deaminasyon yoluyla Sitozin (C) => Urasil (U) ve Adenin (A) => hipoksantine dönüşmesine neden olur. Adenin deaminasyonu ile oluşan hipoksantin sitozinle yanlış eşleşir. (Şekil 5)



Şekil 5. Deaminasyon oluşumu

2.2.3.2. Depürinasyon

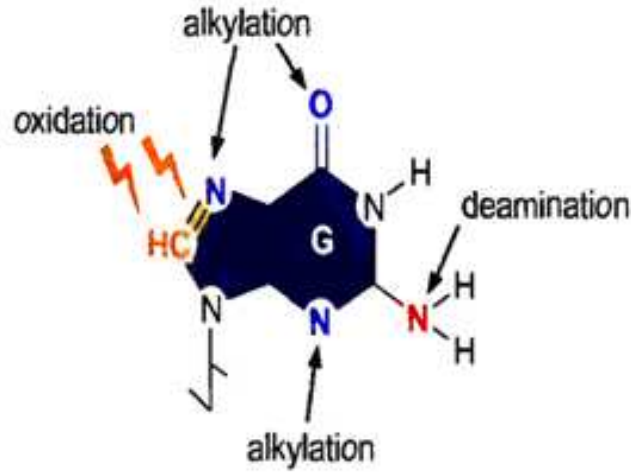
Memeli hücreleri spontan olarak 37 derecede 20 saatlik bir üreme periyodunda yaklaşık 10 000 purin'ini kaybeder. Aflatoksin depürinasyonu indükler (purin bazı kaybı) ancak depürinasyon spontan da olabilir. Depürine dizideki tamir eksikliği delesyonlara neden olabilir. Eğer bu mutasyonlar varsa replikasyon sırasında önemli DNA kayıplarına neden olur. Baz olmayan yerin karşısına baz eklenemez veya buraya bir baz eklenir fakat bu baz, mutant bir baz olur.



Şekil 6. Depürinasyon oluşumu

2.2.3.3. Alkilasyon

Alkilasyon, nükleotidlerdeki amino ve keto gruplarına metil (CH₃ -) ya da etil (CH₃ - CH₂) gibi bir alkil grubu eklenmesi işlemidir. Nitrozaminler, etilmetilsülfonat ve N metil- N1 -nitrosoguanidin en önemli alkilleyici ajanlardır. En önemli alkilasyon bölgesi, guaninin 6. karbon atomundaki oksijendir (59). Alkilasyon sonucunda oluşan O6 -etilguanin (ya da O6-metilguanin), adeninin baz analogu gibi davranarak timinle eşleşir. Bunun sonucunda hasarlı DNA replike olduğunda G:C baz çifti yerine A:T baz çifti geçer. Birçok kimyasal mutajen bazlarda modifikasyonlara neden olur. Bu ajanlar genellikle küçük alkilerdir (örneğin metil grupları). Aynı zamanda birçok mutajen polisiklik bileşenlerden oluşur.



Şekil 7. Guanindeki kimyasal hasar bölgeleri (alkilasyon, oksidasyon, radyasyon)

2.2.3.4. T-T ve T-C dimerleri oluşumu

Nükleik asit bazlarının UV ışığı absorblaması sonucu sıklıkla yakın pirimidin bazlarının birer zincirleri arasındaki bağ oluşumu sonucu dimerler oluşur (siklobütan pirimidin dimerleri). DNA hasarı güneş yanığına ve melanin üretiminin artmasına neden olur ve tüm melanomaların %8 inden de sorumludur.

2.2.3.5. Replikasyon Hataları

DNA replikasyonu esnasında yanlış nükleotlerin eklenmesiyle oluşan hatalardır. DNA polimerazın hata yapma (yanlış bazı ekleme) sıklığı spontan mutasyon oluşumunu etkiler. Polimerazın doğruluk oranını etkileyen en önemli faktör, hata okuma (proofreading) 3'-5' ekzonükleaz aktivitesidir. Bu aktivite, polimeraz tarafından yanlış eklenen bazların çıkarılmasına, böylece replikasyon esnasında mutasyon oluşumunu engellemeye yarar.

2.2.3.6. Çift İplik Kırıkları Oluşumu

İyonize radyasyon, transpozonlar, topoizomerazlar, endonükleazlar, kromozomlar üzerindeki mekanik stres, tek iplikli bölgede tek iplik kesimi ile (örneğin replikasyon ve transkripsiyon sırasında) oluşurlar. DSB'ler bir hücrenin yaşamı boyunca sürekli olarak ortaya çıkan en tehlikeli DNA lezyonu türleridir. DSB'ler hem endojen hem de ekzojen unsurlardan kaynaklanabilir ve mutasyon oluşumuna, onkogenik dönüşüme ya da hücre ölümüne yol açabilecekleri için, genom için önemli bir tehlikedirler.



Şekil 8. Çift İplik Kırıkları

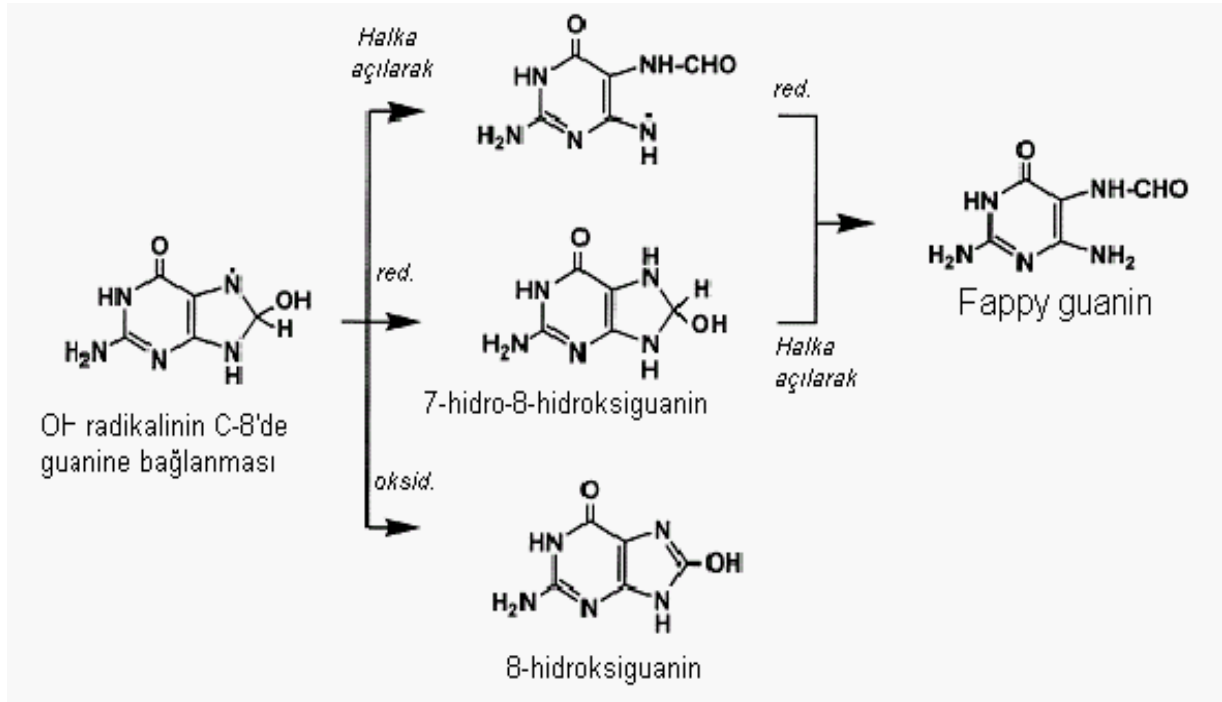
2.2.3.7. Oksidatif Stresin Neden Olduğu DNA Hasarı

Endojen serbest radikallerin her bir hücrede, günde 200.000 kadar bazı hasara uğrattığı tahmin edilmektedir. Serbest radikaller, DNA atakları, mutasyonlara ve hücre ölümlerine yol açmaktadır. Hidroksil radikali bazlarla ve deoksiribozlarla kolayca reaksiyona girer. Hidrojen peroksit ise membranlardan kolayca geçebileceğinden hücre çekirdeğindeki DNA'ya ulaşır ve hücre disfonksiyonuna hatta ölümüne yol açar. Bu nedenle DNA kolay zarar görebilen bir moleküldür (97,98).

ROS (Reaktif Oksijen Türleri) ve RNS (Reaktif Nitrojen Türleri) ile DNA hasarlarının çok az bir kısmı doğal olarak meydana gelmektedir (99). DNA hasarlarının oluşumunda yer alan endojen reaksiyonlar; oksidasyon, metilasyon, depürinasyon ve deaminasyon reaksiyonlarıdır. Nitrik oksid veya nitrojen dioksit (NO₂), peroksinitrit (ONOO⁻), dinitrojen trioksit (N₂O₃) ve nitrikasid (HNO₃) gibi reaktif ürünleri, nitrozasyon ve deaminasyon reaksiyonları ile mutajenik aktivite gösterirler. Farklı ROS türleri farklı yollardan DNA hasarlarına neden olurlar. Örneğin O₂ ve H₂O₂ hiçbir zaman bazlarla reaksiyona girmezken OH radikali DNA'daki dört bazdan herhangi birine bağlanarak farklı reaktif ürünlerin oluşmasına yol açmaktadır. Singlet oksijen ise guanine spesifik bağlanarak hasar oluşturur (97,98).

Hidroksil radikali pürin bazları ile C4, C5 ve C8 pozisyonlarından reaksiyona girerek sırasıyla C4-OH-, C5-OH-, ve C8-OH- pürin radikallerini oluşturmaktadır (98). C4-OH- ve C5-OH-pürin radikalleri dehidrasyona uğrayarak okside pürin radikallerini oluştururlar. C8-OH pürin radikallerinin bir elektronlarının oksidasyonu ve bir elektronlarının redüksiyonu ile sırasıyla 8-hidroksipürinler (7,8-dihidroksi-8-oxopürinler) ve formamidopirimidinler oluşur (98). Şekil 9’da 8-hidroksiguanin (7,8 – dihidroksi – 8 - oxoguanin: 8 – OH - Gua) ve 2,6 – diamino – 4 – hidroksi –5 -formamidopirimidin (FapyGua) oluşum mekanizmaları görülmektedir. Her ikisi de hem oksijenli hem de oksijensiz ortamlarda meydana gelebilmektedir.

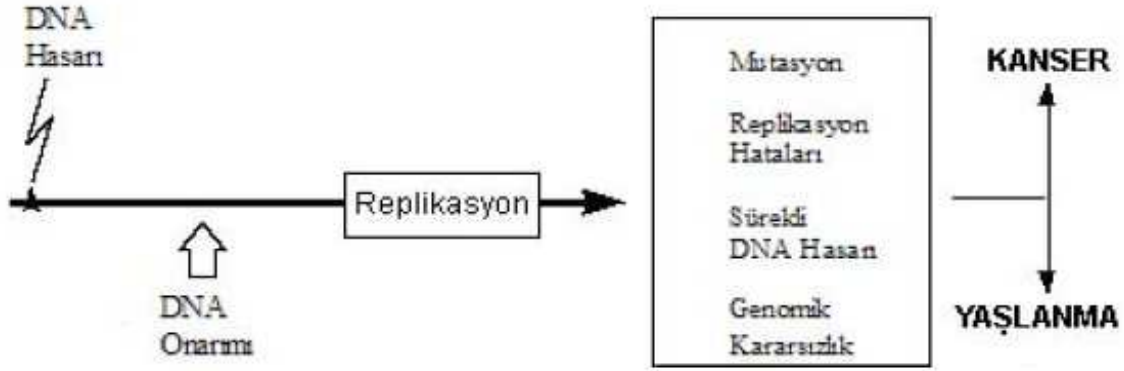
İndirgeyici ajanlar formamidopirimidinlerin oluşumunu artırırken 8-OH-pirimidinlerin oluşması için oksijenli ortam uygun görülmektedir. 8-OH-guanin çok yaygın olarak meydana gelen bir baz hasar ürünü olduğundan oksidatif DNA hasarlarının ölçülmesinde hasar indeksi olarak kullanılmaktadır. Çoğu zaman 8 hidroksideoksiguanozin (8-OH-dGua) nükleoziti şeklinde ölçülmektedir.



Şekil 9. 8-hidroksiguanin ve FapyGua'nın oluşum mekanizmaları

2.2.4. DNA Tamiri

DNA'da oluşan küçük hasarlar çoğu zaman DNA onarım sistemleri tarafından onarılır. Bu cevaplardan herhangi birinin işlev görmemesi, hücre düzeyinde genomik kararsızlıkla, organizma düzeyinde ise genetik hastalıklar, kanser veya yaşlanma ile sonuçlanır.



Şekil 10. DNA Hasarı sonucu oluşan süreç

DNA tamir sisteminde 100'den fazla gen rol oynar ve bu genlerin kodladığı proteinler tamir mekanizmalarında görev alırlar.

DNA Tamir Mekanizmaları;

1. Direkt Tamir ya da Hasarın Geri Döndürülmesi (Reversal of Damage)

- A- Fotoreaktivasyon
- B- O6-metilguanin tamiri
- C- Basit tek zincir kırıklarının ligasyonu

2. Eksizyon (kesip-çıkarma) Tamiri

- A-Baz eksizyon tamiri (BER) (base excision repair)
- B- Nükleotid eksizyon tamiri (NER) (nucleotide excision repair)
- C- Mismatch (yanlış eşleşme) eksizyon tamiri (MER)

3. Replikasyon sonrası (post-replikasyon) tamiri

4. SOS Tamiri

5. Çift Zincir Kırıklarının Tamiri

A- Serbest Uçların Non-homolog Bağlanması (NHEJ)

B- Homolog Rekombinasyon (HR)

2.3. Total Oksidan Seviye, Total Antioksidan Kapasite ve Oksidatif Stres İndeksi

Reaktif oksijen türleri, metabolik ve fizyolojik süreçlerde üretilir ve organizmada zararlı oksidatif reaksiyonlar meydana gelmesine sebep olurlar. Bunlar enzimatik ve nonenzimatik antioksidan mekanizmalarla uzaklaştırılır. Bazı durumlarda oksidanlardaki artış ve antioksidanlarda azalma önlenemez. Oksidan/antioksidan denge, oksidatif taraf lehine kayar. Sonuç olarak, 100'den fazla hastalığa neden olan oksidatif stres meydana gelir (100). Oksidatif stresin rol oynadığı düşünülen süreçler (101-103):

- Sigara içimiyle ilişkili hastalıklar
- Nörodejeneratif süreçler
- Sistemik amiloidoz
- Romatoid artrit
- Respiratuar distress sendromu
- Kardiyovasküler hastalıklar
- Obezite
- Ateroskleroz
- Diyabetes mellitus
- Multipl skleroz
- Yaşlanma
- Gastrik ülser
- Katarakt

Aerob organizmalar hayatta kalabilmek için kendilerini oksijen toksisitesinden koruyan antioksidan savunma sistemlerine sahiptir. Bu organizmalar ayrıca oksijeni (O_2), enerji üretiminde (aerob hücreler için gerekli olan ATP'nin %80'inin üretildiği mitokondrial elektron transport zincirinde; O_2 , son elektron alıcısıdır) ve metabolik transformasyonlarda (oksidaz, hidroksilaz enzimleri örnek; sitokrom p450) kullanma yolları geliştirmiştir. Yani

aeroblar, bir yandan kendilerini O₂'nin zararlı etkilerinden korurken bir yandan da hayati fonksiyonlarında O₂'den oldukça faydalanmaktadır. Ancak, aeroblar kendilerini sadece havadaki %21'lik O₂'den koruyabilen antioksidan savunma mekanizmalarına sahip oldukları için, daha yüksek konsantrasyonlardaki O₂ organizmaya zarar vermektedir (104).

2.3.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, en dış yörüngelerinde bir ya da daha fazla çiftleşmemiş elektron içeren reaktif moleküllerdir. Oksijen türevi radikaller, biyolojik sistemin en iyi bilinen serbest radikalleridir ve canlı hücrelerde, normal süreçte fizyolojik miktarlarda üretilirler. Aşırı oluştuklarında hücre ve dokuların hasarına neden olurlar. Yapılarındaki ortaklanmamış elektrolitlerden dolayı oldukça reaktiftirler ve tüm hücre bileşenleri ile kolayca etkileşebilme özelliği gösterirler (105,106).

Serbest radikaller 3 yolla meydana gelirler:

- 1- Kovalent bağlı radikal olmayan bir molekülün bağlarının koparılması ile iki ayrı radikal oluşumu ile,
- 2- Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün bölünmesi ile,
- 3- Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile.

Organik veya inorganik moleküller, elektriksel olarak pozitif yüklü, negatif yüklü, nötral şekilde olabilirler. Oksijen atom numarası 8 olan, doğada dioksijen olarak bulunan kararsız bir elementtir. Bu kararsız konumu, enerji düzeylerinde bulunan elektronlarının yapısıyla ilişkilidir. Oksijen molekülündeki aynı yöne dönen iki elektrona sahip 2P son orbitali önemlidir. Bu orbitallerden herhangi birindeki elektron, bir orbitali bırakıp diğerine geçtiğinde veya farklı yönde döndüğünde “singlet oksijen” oluşur. Orbitallerden birine ters dönüşlü iki elektron veya ikisine ters dönüşlü iki elektron daha gelirse “oksijen radikali” elde edilir (105).

Oluşan radikal eşleşmemiş tek elektronu nedeniyle çok dengesizdir ve hızla ortamdaki kaybolur. Bu yüzden bu radikaller tek elektronlarını bir başka moleküle verebilir (redüksiyon) ya da bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilirler (oksidasyon). Sonuçta non radikal yapıyı radikal bir şekle dönüştürebilirler.

Tablo 6. Oksijen türevi bileşikler

Radikaller	Radikal Olmayanlar
Hidroksil (HO^\cdot)	Hidrojen Peroksit (H_2O_2)
Alkoksil (RO^\cdot)	Singlet Oksijen ($\text{O}_2^{\uparrow\downarrow}$)
Peroksil (ROO^\cdot)	Ozon (O_3)
Süperoksit (O_2^\cdot)	Hipoklorid (HOCl)
Nitrik oksit (NO^\cdot)	Lipidhidroperoksit (LOOH)
Azot dioksit (NO_2^\cdot)	Peroksinitrit (ONOO^\cdot)

2.3.1.1. Süperoksit Radikali (O_2^\cdot)

Canlılarda oluştuğu ilk gösterilen radikal olan süperoksit radikali hasarlandırıcı özelliği fazla olmayan bir serbest radikal türevi olup H_2O_2 kaynağıdır. Oksitleyici ve metal iyonları redükleyici etkisi vardır. Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin %1-5 kadarı süperoksit yapımı ile sonlanmaktadır. Aktive edilen fagositik lökositlerden bol miktarda süperoksit üretilir. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif türlerin oluşumunu da başlatmaktadır (106,107). Daha sonra bu radikaller, Hidrojen Peroksit (H_2O_2) e dönüşür. H_2O_2 'in kendisi serbest radikal olmasa da en reaktif serbest radikal türlerinden hidroksil radikaline (HO^\cdot) otooksidasyon yolu ile dönüşebilir.

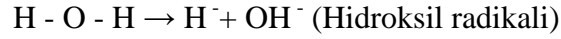
2.3.1.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit, oksijenin enzimatik olarak iki elektronla indirgenmesi ya da süperoksitlerin enzimatik ve enzimatik olmayan dismutasyon tepkimeleri sonucunda oluşmaktadır. Dismutasyon spontan olarak veya süperoksit dismutaz enzimi aracılığıyla olabilir. H_2O_2 membranlardan kolaylıkla geçip hücreler üzerinde bazı fizyolojik rollere sahip olabilir. H_2O_2 özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek, yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturabilmektedir. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipit peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilmektedir (106,108)

2.3.1.3. Hidroksil Radikali (HO^\cdot)

Hidroksil radikali, biyolojik sistemlerde bulunan en güçlü serbest radikaldir. Dokular radyasyona maruz kaldıklarında, enerjinin çoğu hücre içindeki su tarafından emilir ve

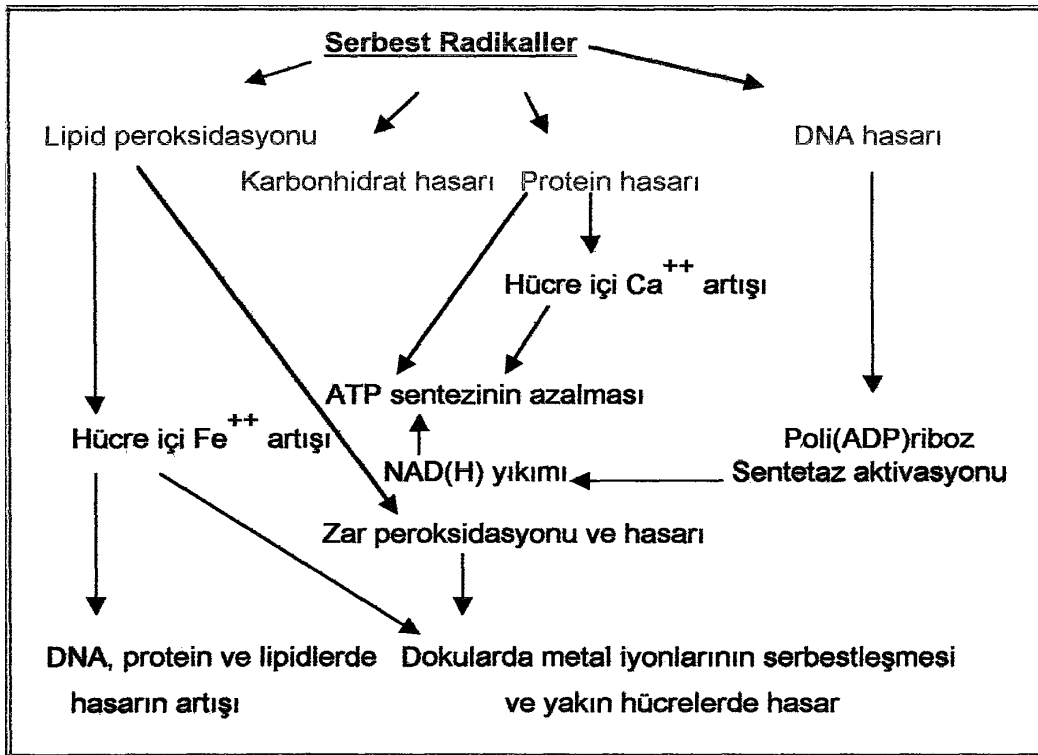
radasyon oksijen ve hidrojen arasında kovalent bağa neden olur. Sonuçta iki radikal meydana gelir. Bu radikallerden biri hidrojen (H^{\cdot}) ve diğeri ise hidroksil radikalidir (HO^{\cdot}).



Yine OH^{\cdot} leri aromatik halkaya katılma özelliği gösterdiklerinden DNA ve RNA'da bulunan pürin ve pirimidin bazlarına katılarak radikal oluşumuna neden olurlar. Bir dizi reaksiyona katılabilen OH^{\cdot} radikalleri DNA'nın baz ve şekerlerinde ciddi hasarlar oluşturarak DNA iplik kırılmalarına neden olurlar. Hasar çok kapsamlı olursa hücrel koruyucu sistemler tarafından tamir edilemeyebilir ve bunun sonucunda çeşitli mutasyonlar ve hücre ölümleri meydana gelir (109).

2.3.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri

Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşenlerine etki ederler. Mitokondrideki aerobik solunumu ve kapiller geçirgenliği bozarak, bir yandan hücrenin potasyum kaybına neden olurken öte yandan trombosit agregasyonunu arttırlar (şekil 11) (110).



Şekil 11. Serbest radikallerin hasar oluşturma mekanizmaları

2.3.2.1. Membran Lipidlerine Etkisi (Lipid Peroksidasyonu)

Lipidler, serbest oksijen radikallerine karşı en hassas olan vücut bileşenleridir. Membrandaki kolesterol ve doymamış yağ asitleri, serbest radikaller tarafından kolayca

perokside edilirler ki bu hasar geri dönüşümsüzdür. Hasar ile membran geçirgenliğinin değişmesi, anormal kalsiyum iyonu girişine yol açarak hücre fonksiyonlarının bozulmasına ve oksidasyon ile fosforilasyonun ayrılmasına neden olur. Ayrıca ortamdaki demir ve bakır gibi metal iyonları, lipid peroksidlerinin sitotoksik ürünlere dönüşümünü hızlandırır.

Lipid hiperoksidleri yıkımı ile biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşur ki bu maddeler, hücre içine yayılarak, hasarın hücrenin diğer bölümlerine de yansımaya neden olurlar. Lipid peroksidasyonun sonunda MDA oluşur. Oluşan MDA, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi membran özelliklerini değiştirerek mutajenik, genotoksik ve karsinojenik etkilere yol açabilir (111).

2.3.2.2. Proteinlere Etkisi

Serbest radikallerin proteinlere etkisi proteinlerin aminoasit içeriğine göre değişir. Protein molekülleri üzerindeki sülfhidril veya amino gruplarıyla serbest radikallerin etkileşmesi sonucu proteinlerde oluşan yapısal değişiklikler üçe ayrılır:

- 1- Aminoasitlerin modifikasyonu,
- 2- Proteinlerin fragmentasyonu,
- 3- Proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmalarıdır (112).

Proteinin temel yapısındaki değişme, antijenitesindeki değişmeye ve proteolize hassasiyete yol açabilir. Radikaller, membran proteinleri ile reaksiyona girebilirler ve enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarının bozulmasına neden olabilirler. Serbest radikallerin etkisiyle IgG ve albümin gibi fazla sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur. Böylece normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle okside olmuş hemoglobinin O_2 veya H_2O_2 ile reaksiyonu methemoglobin oluşumuna sebep olmaktadır (111).

2.3.2.3. Nükleik asitlere Etkileri

Nükleik asitler, serbest radikallere bağlı değişikliklere duyarlıdır. Hidroksil radikallerin DNA ile tepkimesi sonucunda baz modifikasyonları, baz delesyonları, zincir kırılmaları gerçekleşebilmektedir.

Oksijen radikalleri, oksidatif yarıma ile DNA hasarına yol açabilmektedir. Özellikle pirimidinlerden olan timin en hassas yapıdır. DNA halatlarının kopması, DNA çift sarmalı ayrılması sonucu hücrede mutasyonlar ve ölüm gelişebilmektedir. 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OhdG), oksidatif DNA hasarının bir göstergesidir. Yenidoğan ve hipokside kalan bebeklerde oranın yüksek olduğu bildirilmektedir (113).

2.3.2.4. Karbonhidratlara Etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksid, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelmektedir. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu katarakt, diyabet ve sigara içimi ile ilişkili kronik hastalıkların, inflamatuvar eklem hastalıklarının oluşumuna katkıda bulunabilirler (105).

2.3.3. Antioksidan Mekanizmalar

Yükseltgenebilir bir substratla (protein, lipid, karbonhidrat ve nükleik asitler) karşılaştırıldığında daha düşük konsantrasyonlarda bulunduğu zaman o substratın oksidasyonunu belirgin biçimde geciktiren/önleyen maddeye antioksidan denir (114). İkinci bir tanıma göre diyetel antioksidan normal fizyolojik fonksiyonların varlığında reaktif oksijen ve nitrojen türleri gibi reaktif türlerin yan etkilerini belirgin biçimde azaltan ve yiyeceklerde var olan maddeler olarak tanımlanır (115). Ancak bu tanım yeniden gözden geçirilmiş ve genişletilerek membran stabilitesini devam ettirme özelliğinin de antioksidanların fonksiyonlarından biri olduğu belirtilmiştir (116).

Antioksidan savunma mekanizmaları etkilerini aşağıdaki yollarla gösterebilirler:

- 1- Hasarlı hedef moleküllerin yerini alarak,
- 2- Reaktif oksijen türleri oluşumunu minimumda tutarak,
- 3- Hasarlı hedef molekülleri onararak,
- 4- Yüksek derecede reaktif türlerin oluşumunda görev alan metal iyonlarını bağlayarak,
- 5- Reaktif türleri enzim kullanarak yahut bizzat kendisinin yer aldığı reaksiyonlarla temizleyerek (117).

Aerobik hücrelerde pek çok antioksidan sistem bulunmaktadır. Bu antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmaktadır. Endojen antioksidanlar, enzim olarak görev yapanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenmektedir. Enzim olan antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT), glutatyon-S- transferaz (GST), glutatyon redüktaz ve mitokondrial oksidaz sistemidir. Enzim olmayanlar ise; bilirubin, albümin, ürik asit, α - tokoferol, askorbik asit, seruloplazmin, transferrin, ferritin ve glutatyon gibi maddelerdir. Bunlar oksijen radikallerine karşı ilk savunma sistemini oluşturmaktadırlar (118,119).

Eksojen antioksidan olarak da allopurinol, folik asit, C vitamini, E vitamini, asetilsistein, mannitol, adenzin, kalsiyum kanal blokerleri, non steroid antiinflamatuvar ilaçlar ve demir şelatörleri sayılabilir (120).

2.3.3.1. Enzim Olan Antioksidanlar

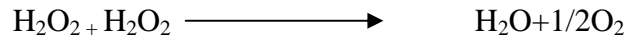
2.3.3.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

SOD enziminin bakır-çinko, mangan ve demir içeren üç tip izoenzimi bulunur. Bakır ve çinko içeren Cu-Zn-SOD sitoplazmada, mangan içeren Mn-SOD mitokondride aktivite gösterir. Cu-Zn-SOD ve Mn-SOD aynı mekanizma üzerinden etki gösterirler ancak Mn-SOD pH 7'nin üzerinde aktivitesini kaybederken Cu-Zn-SOD'un aktivitesi pH 5.5-10 aralığında değişmez.

SOD, substrat olarak serbest oksijen radikallerini kullanan ve süperoksiti hidrojen peroksit'e çeviren bir metalloenzimdir. Bu reaksiyon "oksidatif strese karşı ilk savunma" olarak da adlandırılmaktadır. Çünkü süperoksit zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücrel kompartmanlardaki süperoksit düzeyleri kontrol altında tutulmaktadır. Lösemi, iskemi, hepatit, müsküler distrofi, respiratuar distres 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, lipid peroksidasyonunu da inhibe etmektedir. SOD aktivitesi yüksek oksijen kullanan dokularda fazladır. SOD'ın ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür (121).

2.3.3.1.2. Katalaz

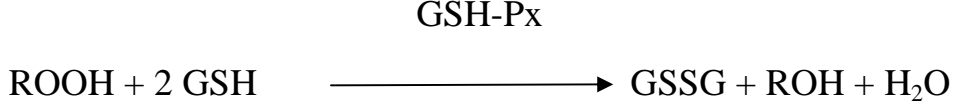
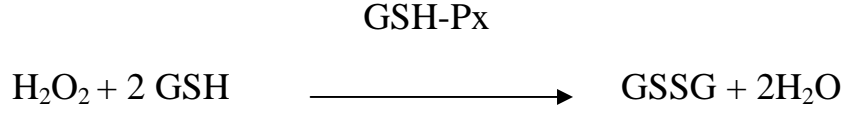
Katalaz enzimi hidrojen peroksitin su ve moleküler oksijene çevrildiği reaksiyonu katalizler. Enzim hücre içinde peroksizomlarda yerleşmiştir ve bir hemoproteindir. Dört tane hem grubu içerir. Katalaz'ın etkisi de SOD'a benzerdir.



Bu reaksiyon H_2O_2 konsantrasyonları yükseldiğinde önem kazanırken düşük H_2O_2 konsantrasyonlarında diğer peroksidazlar H_2O_2 'lerin daha az reaktif olan alkollere ve suya parçalanmasını katalizler. Kanda, böbrek ve karaciğerde ayrıca mukoz membranlarda bulunur. Granulomatoz hücreleri solunumsal patlamaya karşı korur (116).

2.3.3.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

GSH-Px, pek çok hücrenin sitozollerinde bulunan bir enzimdir ve hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumludur. Sitozol ve mitokondrielerde SOD tarafından oluşturulan H_2O_2 ve yağ asidi hidroperoksitlerini ortadan kaldırmaktadır. Düşük H_2O_2 konsantrasyonunda çalışmaktadır. Kofaktör olarak selenyum elementinin kullanır.



Hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin indirgenmesiyle oksitlenen glutatyon, glutatyon redüktaz enzimi ve başlıca pentoz fosfat yolundan sağlanan NADPH yardımıyla indirgenerek reaksiyonların devamını sağlar (121).

GSH-Px, fagositik hücrelerde önemli fonksiyonlara sahiptir. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu, fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de GSH-Px oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma, H₂O₂'in artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar. Yapılan çalışmalarda kord kanı GSH-Px ve total antioksidan düşüklüğü olan bebeklerde DNA hasarının yüksek olduğu gösterilmiş ve doğumda oksijen radikallerinin oluşumunun arttığı ifade edilmiştir (122).

2.3.3.1.4. Glutatyon-S-Transferaz (GST)

Lipid peroksitlerine karşı selenyumdan bağımsız glutatyon peroksidaz aktivitesi göstermektedir.



Antioksidan aktivitesine ek olarak başka biyokimyasal fonksiyonlara da sahip olup bilirubin, hem ve bazı kortikosteroidler gibi endojen maddelere geri dönüşsüz olarak bağlanarak bunların hücre içi transportunda da görev almaktadır (121).

2.3.3.1.5. Glutasyon Redüktaz (GR)

H₂O₂ indirgenmesi esnasında GSH oksitlenir. Glutasyon peroksidazın fonksiyonunun devamlılığı için okside glutasyon tekrar indirgenmelidir. Reaksiyon GSH redüktaz tarafından katalizlenir. Enzim NADPH bağımlı bir flavoproteindir (121).



2.3.3.1.6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz

Süperoksit anyonunun suya dönüştüğü reaksiyonu katalizler. Bakır içerir. Mitokondrideki elektron taşıma zincirinin son basamağında yer alır.

2.3.3.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar

2.3.3.2.1. Glutasyon (GSH)

Glutamat, sistein ve glisin aminoasitlerinden sentezlenen ve hücrede en fazla tiyol içeren bileşiktir. GSH sentezinde kullanılan sisteinin kaynağı N-asetilsisteindir. Glutaminin glutaminaz ile hidrolizi ve α -ketoglutarat ile dallı zincirli aminoasitlerin transaminasyonu GSH sentezinde kullanılan glutamatın temel kaynaklarıdır. GSH'dan kaynaklanan glutatyon radikali (GS⁻) bir prooksidandır. Ancak iki GS⁻ birleşerek okside glutatyonu (GSSG) oluştururlar bu da GSH redüktaz tarafından GSH'ya indirgenir. Doğrudan veya dolaylı yollarla reaktif oksijen türlerini temizler. Hücrel oksidasyon-redüksiyon dengesinin düzenlenmesinde önemli rol oynayan tiyol proteinleriyle etkileşime girer (123).

2.3.3.2.2. Vitamin C (Askorbik Asit)

C Vitamini pek çok biyolojik fonksiyon için gerekli suda çözünebilir bir mikronutrienttir. Birçok enzimin kofaktörü olarak görev yapar. Bunlar; kollajenin post-translasyonel hidroksilasyonu, karnitin biyosentezi, dopaminin norepinefrine dönmesi, peptid amidasyonu ve tirozin metabolizmasında görev alan enzimlerdir.

Anti-skorbutik fonksiyonu yanında C vitamini potent bir indirgeyici ajan ve biyolojik sistemlerde serbest radikal toplayıcısıdır (124). Biyolojik sıvılarda en çok bulunan ve suda çözünen bir antioksidandır. Süperoksit, hidroperoksit radikalleri ve singlet oksijen ile peroksinitrit, nitrojen dioksit ve nitroksit radikallerini toplayabilme özelliğine sahiptir. Paradoksik olarak C vitamini in vitro koşullarda bir prooksidan gibi davranabilir. C

vitamininin demir ve bakır ile birlikteliği lipidlerin, proteinlerin ve DNA'nın oksidatif modifikasyonunu indüklemek için kullanılmaktadır (114). C vitamini oksidatif strese ferrik demiri ferroz demire indirgeyerek ve sonrasında H₂O₂'in hidroksil radikaline dönüşümünü sağlayarak neden olabilir. Ancak genel olarak bu C vitamini aracılı Fenton reaksiyonları insanda ferritin ve transferin gibi metal bağlayıcı proteinlerin etkin demir sekestrasyonu sayesinde kontrol edilir. Prooksidan etkinin in vivo koşullarda gerçekleşip gerçekleşmediği net değildir (114,125). İnsan plazmasının in vitro inkübasyonu yöntemiyle yapılan çalışmalar C vitamininin aktive redoks geçiş metalleri ve H₂O₂ eklenmesi durumunda bile lipid peroksidasyonunu engellediğini göstermiştir (126).

Plazma askorbik asit havuzunda sigara kullanımıyla ilişkili düşüş ilk olarak 1930'larda tanımlanmıştır (127). Sonraki çalışmalarda da sigara içenlerde içmeyenlere göre plazma/serum/lökosit C vitamini konsantrasyonlarının yaklaşık olarak %40 daha düşük olma eğiliminde olduğu gözlenmiştir. Son çalışmalarda sigara içen erkek ve kadınlarda plazma, lökositler ve idrarda gözlenen düşük askorbik asit konsantrasyonlarının nötrofillerin aktivite ve sayılarında artışla ilişkili olduğu bunun da C vitaminin artmış kullanımı, düşük alımı veya azalmış biyoyararlılığıyla açıklanabileceği söylenmiştir (128).

2.3.3.2.3. Vitamin E (Tokoferol)

Alfa tokoferol yağda çözünen lipit zincirini kıran bir antioksidandır. Mitokondri ve endoplazmik retikulum gibi membrandan zengin hücre kısımlarında vitamin E konsantrasyonu artmıştır. Çok güçlü bir antioksidan olan alfa tokoferol hücre membran fosfolipitlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal ataklarına karşı korur, oluşan radikalleri temizler, lipid peroksidasyonunu inhibe eder. Askorbik asit E vitaminin etkisini artırır. E vitamini ve GSH-Px serbest radikal etkisine karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. E vitamini, sentezlerini engeller iken GSH-Px, oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırır (129).

2.3.3.2.4. β Karoten

A vitaminin metabolik bir ön maddesi olan ve yağda çözünen bir antioksidan olan beta karoten son derece güçlü bir oksijen temizleyicisidir. Serbest radikalleri direkt olarak yakalayabilir ve aynı zamanda zincir kıran bir antioksidan olarak etki ederek de peroksit radikalleri oluşumunu engeller (130).

2.3.3.2.5. Seruloplazmin

Plazma antioksidan aktivitesinin önemli bir kısmı, bakır içeren ve taşıyan akut faz proteini seruloplazminden kaynaklanır. Demir ve bakır bağımlı lipid peroksidasyonu inhibe eder. Daha az önemli olmakla birlikte süperoksit radikali ile reaksiyona da girer.

2.3.4. Total Antioksidan Kapasite

Antioksidan savunma sistemleri, özgül etkiler dışında bir ortak etkiler ve ilişkiler ağı oluşturur. Örneğin; vitamin C ve glutatyon, vitamin E'nin rejenerasyonunu sağlayarak; ürik asit, vitamin C'nin otooksidasyonunu engelleyerek sinerjistik etki gösterirler. Böylece antioksidan durumu göstermede tek tek antioksidan ölçümü yanında değişik antioksidanları ortak etkilerinin ölçümüne yani "total antioksidan kapasite"nin bilinmesine ihtiyaç doğar. Sonuçta plazmanın total antioksidan kapasitesinin her antioksidanın tek başına etkilerine ek olarak değişik antioksidanlar arasındaki ilişkilere bağlı olduğu söylenebilir (131).

2.3.5. Oksidatif Stres

Organizmada normal şartlarda da oluşan serbest radikal üretimi, değişik savunma mekanizmaları ile ortadan kaldırılır. Bu nedenle patolojik bir durum oluşmaz. Serbest radikal oluşum hızı ve serbest radikal miktarı savunma mekanizmalarının gücünü aştığı zaman oksidan stres ortaya çıkar. Sonuç olarak serbest radikallerinin hücre fonksiyonlarına net etkisi, radikal ürünleri ile koruyucu sistemler arasındaki dengeye bağlıdır.

Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir düşme bu dengenin bozulmasına neden olur. 'Oksidatif stres' olarak adlandırılan bu durum özetle: serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup, sonuçta doku hasarına yol açmaktadır (132).

Oksidatif stresin bronşektazi ve COPD ve astım gibi diğer kronik inflamatuvar hastalıkların patofizyolojisinde önemli rol oynadığına inanılmaktadır (133).

Solunumsal patlama sırasında inflamatuvar hücreler tarafından üretilen aşırı miktardaki serbest radikallerin konağın antioksidan defansını yenmesi havayolu epiteliyal hücrelerinde ve diğer havayolu yapılarında şiddetli hasara neden olur (134).

Bronşektazili hastalarda solunumla dışarı atılan H₂O₂'nin düzeyinin artmış olduğu bildirilmiştir (135). Solunumla dışarı atılan H₂O₂ düzeyleri indükte balgamdaki nötrofil sayısı, hastalığın yaygınlığı, akciğer fonksiyonundaki bozulma ve hastalığın şiddeti ile koreledir (136).

Bakteriyel enfeksiyonlar akciğerde fagositik hücrelerin toplanması ve aktivasyonunu kolaylaştırarak oksidatif strese katkıda bulunabilirler(137). P. aeruginosa enfeksiyonu olan bronşektazili hastalarda P. aeruginosa enfeksiyonu olmayan bronşektazili hastalara göre anlamlı derecede daha yüksek H₂O₂ düzeyleri olduğu gösterilmiştir (138).

3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışmaya, Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Allerji, İmmünoloji ve Göğüs Hastalıkları Bilim Dalına 15.10.2011-15.08.2012 tarihleri arasında başvuran klinik ve YRBT ile bronşektazi tanısı almış çalışma kriterlerini sağlayan 45 çocuk ve kontrol grubu olarak 36 sağlıklı çocuk alındı.

Kontrol grubu gelişim takibi için sağlık merkezlerine getirilen, öykü ve fizik muayene ile şikayet ve hastalık durumları bulunmayan, sigara dumanına maruz kalmamış, aynı yaştaki ve sosyokültürel durumları hasta grubuyla uyumlu çocuklardan seçildi.

Çalışma için Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik kurulunun onayı alındı. Araştırmaya katılmayı kabul eden ailelere çocukların ve ailenin bazı sosyodemografik özelliklerini inceleyen anket uygulandı. Ankette aynı zamanda, çocuğun özgeçmişi, soygeçmişi, beslenme öyküsü, fizik muayenesi, laboratuvar ve diğer inceleme yöntemlerinin sonuçları da yer aldı.

Hastalardan yakınmalarının ve akut enfeksiyon tablosunda olmadıkları, ve herhangi bir ilaç kullanmadıkları dönemlerde kan alınarak çalışma yapıldı.

Kliniğimize başvuran bronşektazi hastalarından 5 tanesi daha önceden tanı almış ve tedavi amacıyla üst merkeze sevk edilmişlerdi. Bronşektazi tanısı konulan hastalar kistik fibrozis açısından klinik ve YRBT'ye göre değerlendirildi. Ayrıca kistik fibrozisi dışlamak amacıyla Macroduct Pilokarpin İyontoforez yöntemiyle ter testi yapıldı. Ter testi en az 2 defa tekrarlandı. Ter testi sonucu 60 mmol/L altı olanlar çalışmaya alındı. Ter testi sonucu 60-90 mmol/L arasında çıkan 4 hastaya KF tüm gen mutasyonu çalışıldı. KF tüm gen mutasyonu normal olarak değerlendirildi ve çalışmaya dahil edildi. Ter testi 90 mmol/L üzeri çıkan 3 hasta çalışma dışı bırakıldı.

Hastalar immotil silia açısından değerlendirildi. Floresan mikroskopta mukosilier aktivite bakıldı ve sakkarin testi ile mukosilier transport zamanı (MSTZ) bakıldı. MSTZ 30 dakikadan uzun sürenler patolojik olarak değerlendirildi. Hastalara gastroözefagial reflü'yü dışlamak için pH metre yapıldı.

Hastalara serum immunglobulin G, A ve M bakıldı. Yaygın görülen allerjenlere karşı spesifik IgE (çimen poleni, ağaç poleni, yabani ot poleni, mantar, kedi-köpek deri döküntüsü) bakıldı. Alfa-1 antitripsin çalışıldı.

Hastaların hepsine rutin PPD yapıldı. BCG skarı pozitif ve PPD 15 mm nin üzerinde değerlendirilen 4 hastadan 3 gün üst üste mide açlık suyu alındı. Materyalden direk boyama ile ARB bakıldı ve kültür yapıldı. Sonuçlar negatif olarak değerlendirildi.

Hastalara çekilen YRBT deneyimli bir radyolog tarafından Reiff skoru kullanılarak derecelendirildi (139). Akciğer 6 lob ve 18 segment olarak değerlendirildi. Bronşektazi alanı 0-2 puan, bronşial dilatasyon şiddeti 0-3 puan, bronş duvar kalınlığı 0-3 puan üzerinden değerlendirilerek maksimum 48 puan üzerinden puanlandırıldı.

Araştırma için seçilen çocuklardan DNA hasarı, oksidan ve total antioksidan kapasite incelemesi için venöz kan örnekleri heparinize tüplere alındı. Alınan kan örnekleri hemen buzlu su içine konularak laboratora ulaştırıldı. Örnekler öncelikle DNA hasar ölçümü için mononükleer lökositlerin seperasyonunda kullanıldı. Biyokimsal analizler için ayrılan venöz kan örnekleri 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra şekilli elemanlar tüp ile birlikte atıldı, üstteki serum örnekleri -20 °C'de saklanarak total antioksidan status (TAS) ve serum total oksidan status (TOS) oto-analizörde kolorimetrik olarak Ö. Erel metodu ile ölçüldü.

3.1. Yöntem

3.1.1. Toplam Antioksidan Status Düzeyinin Ölçümü (TAS)

Örneklerin total antioksidan status düzeyi (TAS), Ö. Erel tarafından geliştirilen Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülen tam otomatik bir yöntem olup, güçlü serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesini ölçen bir metoddur (140). Ölçüm yöntemi, örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS* katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikali antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması esasına dayanır. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanılır. Sonuçlar mmol Trolox Eqiv/L olarak ifade edildi.

3.1.2. Toplam Oksidan Status Düzeyinin Ölçümü (TOS)

Örneklerin total oksidan status (TOS) düzeyi, Ö. Erel tarafından geliştirilen Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülen tam otomatik bir yöntem olup (141), testin çalışma prensibinde ifade edildiği üzere örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ferroz iyonu ferrik iyona kümülatif olarak oksitlemesine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanılır. Kalibratör olarak Hidrojen Peroksit kullanılır. Sonuçlar µmol H₂O₂ Eqiv./L olarak ifade edilir.

Prencip: örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferik iyonu oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xilenol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir.

3.1.3. Oksidatif Stres İndeksi Ölçümü (OSI)

Örneklerin oksidatif stres indeksi (OSI), örneklerin toplam oksidan status (TOS) düzeylerinin, örneklerin toplam antioksidan status (TAS) oranına yüzdesi olarak belirtilir (142). Hesaplamadan önce TAS testinin birimindeki mmol değeri TOS testindeki gibi mikromol birimine çevrilir. Sonuçlar Arbitrary Units olarak ifade edildi.

3.1.4. Mononükleer Lökositlerin Seperasyonu

Bir ml histopaque-1077 üzerine bir ml taze heparinize kan yavaşça konup 2100 rpm ve 25°C'de 30 dakika santrifüj edildi. Orta tabakada biriken mononükleer lökositler pipet yardımıyla alınıp bir ml tuzlu fosfat tamponu (pH=7.4) ile karıştırıldıktan sonra 1600 rpm ve 25°C'de 10 dakika santrifüj edildi. Üstteki süpernatant atılıp pellet tuzlu fosfat tamponu (pH=7,4) ile 10⁶ mononükleer lökosit / μ l olacak şekilde dilüe edildi.

3.1.5. Comet Assay (alkali mononükleer hücre elektroforezi) yöntemi ile DNA Hasar Tayini

3.1.5.1. Yöntemin Prensipleri

Comet Assay yöntemi alkali pH'da farklı molekül ağırlıklarına ve farklı elektrik yüküne sahip DNA moleküllerinin elektriksel alanda farklı göç etmeleri esasına dayanmaktadır. Tek hücreler agarozaya yerleştirilir ve lizisten sonra zarar görmemiş DNA'lar taşınma sırasında comet (kuyruk) oluşturmazlar. Oysa DNA fragmente olmuşsa fragmentler (nükleik asitler) farklı moleküler ağırlıklara ve farklı elektrik yüklerine sahip olacaklarından elektriksel alanda farklı hızlarda hareket ederek kuyruk şeklinde bir görüntü oluştururlar (143-147).

3.1.5.2. Yönteminin Uygulanışı

3.1.5.2.1. Slaytların Hazırlanması

NMP agaroz jel % 1,0 'lik olarak hazırlandı ve 80^ol jel kenarları buzlanmış lam üzerine damlatıldı ve üzeri lamel ile kapatılarak buzdolabında (2-4 °C) 5 dakika bekletildikten sonra lamelleri kaldırıldı. Hazırlanan lamalar nemli kutularda bekletildi. PBS (Fosfat buffered saline) ile mm³te 10⁴ hücre olacak şekilde dilüe edilmiş mononükleer hücrelerden 10 µl alınarak 80 µl %0,5'lik Low Melting Point (LMP) agaroz jel (37^oC) ile karıştırılarak birinci tabaka üzerine tabakalandırıldı ve tekrar lamel ile kapatılarak buzdolabında donması için 5 dakika bekletildi. Üçüncü aşamada ise aynı konsantrasyonda LMP agaroz jel hazırlanarak ikinci tabakanın üzerine ince bir tabaka halinde tabakalandırılarak slayt hazırlanması tamamlandı (143-147).

3.1.5.2.2. Lizis aşaması

Agaroz jel kurduktan sonra slaytlar yaklaşık bir saat süre ile yüksek konsantrasyonda tuz ve deterjan içeren soğuk lizis solüsyonunda bekletildi. Lizis solüsyonunun içeriği 100 mM EDTA, 2,5 M Sodyum klorid, 10 mM Trizma base ve %1 oranında Triton X-100'den oluşmaktadır. Bu solüsyonun pH 'sı 10'a ayarlandı. Lizis tamponu ile hücre ve çekirdek zarı lizise uğratıldı (143-147).

3.1.5.2.3. Elektforez Tamponu

Elektroforezde yürütmeden önce DNA zincirlerinin ayrılması için slaytlar alkali elektroforez tamponunda 20-30 dakika inkübasyona bırakıldı. Alkali çözeltisi 1mM EDTA ve 300 mM sodyum hidroksit içermektedir (pH <13) (124-128).

3.1.5.2.4. Elektroforezde Yürütme

Alkali elektroforez tamponunda inkübasyon tamamlandıktan sonra DNA'lar bu tampon çözeltisi içerisinde 300 mA, 14 volt'luk elektriksel alanda ve 5-25 °C'de 30 dakika yürütüldü (143-147).

3.1.5.2.5. Nötralizasyon

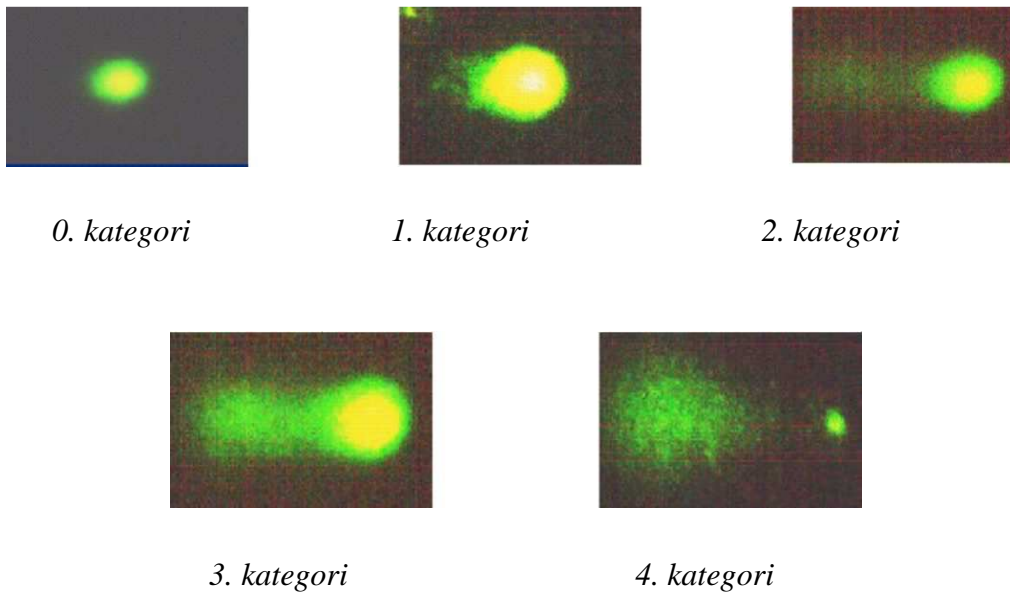
Elektroforezde yürütme işlemi tamamlandıktan sonra alkali tampon çözeltisini ortamdan uzaklaştırmak için slaytlar 3 dk süre ile 3 kez nötralizasyon tamponu ile (0.4 M Tris-HCL, pH 7.5) yıkandı (143-147).

3.1.5.2.6. Boyama

Nötralizasyon tamamlandıktan sonra boyama yapılarak cometler sayılır veya jel oda sıcaklığında kurutularak slaytlar nemli ortamda en fazla bir hafta depolanabilir. Boyama işlemi için floresan boya olan etidyum bromit boyası (5 µg/ml) kullanıldı. Her bir slayt için 80 µL boya slayt üzerine damlatıldıktan sonra lamel ile üzeri kapatılarak 20 büyütme floresan mikroskop ile (Eksitasyon DB: 546 nm, Emisyon DB: 580 nm) 50 adet DNA görüntüsü değerlendirildi.

3.1.5.2.7. Analiz

Bu yöntemde DNA migrasyonunu vizüel olarak değerlendirildi. Oluşan hasarın derecesine göre DNA'lar beş kategoride değerlendirildi. Şekilde de görüldüğü gibi, hiç hasar bulunmayan DNA'lar 0, maksimum hasar olan DNA'lar 5. kategoride değerlendirildi.



Şekil 12. DNA hasarları sonucu meydana gelen hasarların elektroforez migrasyonu sonrası DNA'ların floresan mikroskop altındaki görüntüleri

Migrasyonun uzunluğu fragmentlerin miktarına, DNA zincir kırılmalarına ve alkali labil bölgelerin seviyelerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir (143-147).

3.2. Yapılan İstatistiksel Analizler

Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS 11,5 programı (SPSS for Windows, 11.5 SPSS Inc., USA) kullanıldı. Bu program kullanılarak gerekli istatistiksel analizler ve şekiller yapıldı. Sonuçlar ortalama \pm standard sapma olarak belirtildi ve $p>0,05$ anlamsız, $p<0,05$ değeri anlamlı, $p<0,01$ çok anlamlı, $p<0,001$ ileri düzeyde anlamlı kabul edildi. Gruplarda dağılım testi Kolmogorov-Smirnov testi ile yapıldı. Grupların arasındaki farkı değerlendirmek için student t-test ve ki-kare testi kullanıldı. Parametrelerin arasındaki iliŐkiyi değerlendirmek için ise korelasyon analizi yapıldı.

4. BULGULAR

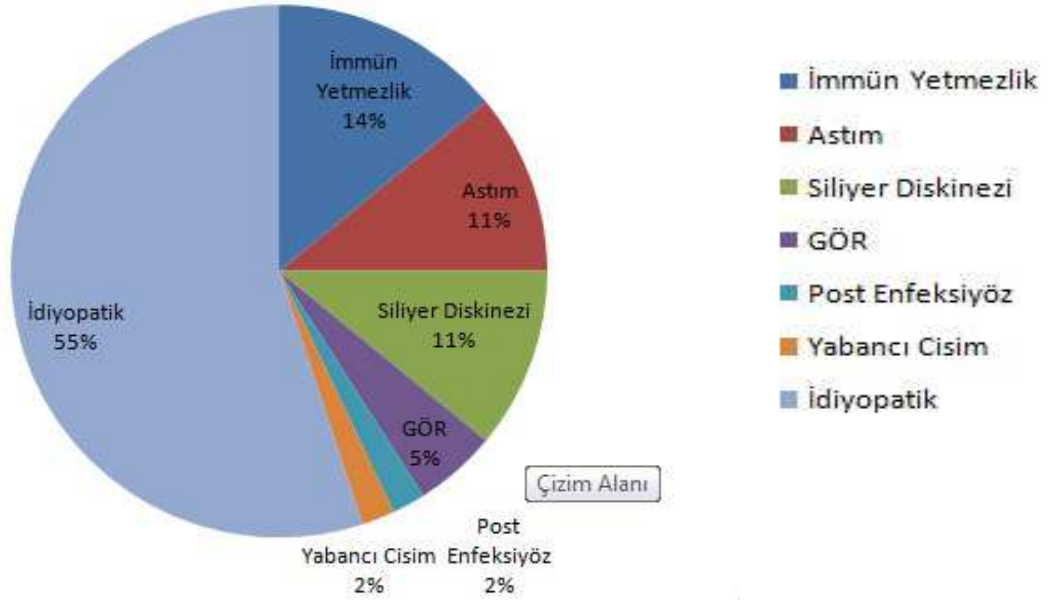
Çalışmaya alınan 45 kistik fibrozis dışı bronşiektazi hastasının 21'i (%46,7) erkek, 24'ü (%53,3) kız olup, ortalama yaşları 10.4 ± 3.27 (4-17) yıl idi. Erkek/kız oranı 0.87/1 olarak bulundu. Onyedisi (%47,2) erkek, 19'u (%52,8) kız toplam 36 çocuk kontrol grubunu oluşturdu. E/K oranı 0.89/1 olarak bulundu. Hasta gurubunun 27'sinde (%60) akrabalık mevcuttu. Kistik fibrozis dışı bronşiektazi ve kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyet açısından anlamlı fark yoktu. Kistik fibrozis dışı bronşiektazi ve kontrol grubuna ait demografik veriler Tablo 7'de görülmektedir.

Tablo 7. Bronşiektazi ve kontrol grubunun yaş, cinsiyet ve akrabalık değerleri dağılımı.

	Bronşiektazi Vakaları (n:45)*	Kontrol (n:36)*	<i>p</i>
Yaş (Yıl)	10.4±3.27	9,36 ±3,65	=0,18
Cinsiyet (E/K)	21/24	17/19	=0,96
Akrabalık (Var/Yok)	27/18	16/20	=0,16

* Değerler ortalama±SS olarak verilmiştir.

Bronşiektazi sebepleri arasında 6 hastada immün yetmezlik (3 hasta bruton, 2 hasta selektif IgA eksikliği, 1 hasta IgM eksikliği), 5 hastada astım, 5 hastada primer silyer diskinezi, 2 hastada gastroözofajyal reflü, 1 hastada enfeksiyon (kızamık, ağır pnömoni, boğmaca) ve 1 hastada yabancı cisim aspirasyonu saptanırken, 25 (%55) hastada bronşiektazi idiyopatik olarak değerlendirildi. (Şekil 13)



Şekil 13. Kistik fibrozis dışı bronşektazi hastalarının etyolojilerine göre dağılımı

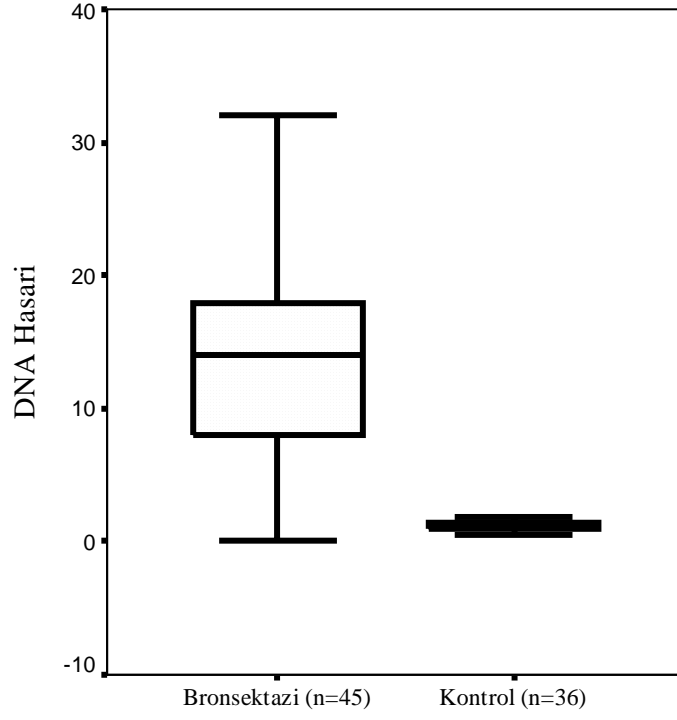
Kistik fibrozis dışı bronşektazi hastalarında ve kontrol grubunda periferik kan lökositlerinin comet assay tekniği kullanılarak elektroforez migrasyon görüntüleri değerlendirildiğinde hasta grubunda DNA hasarının belirgin artmış olduğu saptandı (Tablo 8, Şekil 14).

Her iki grupta oksidan-antioksidan sistem değerlendirildiğinde ise TOS ve OSİ düzeylerinin hasta grubunda arttığı, TAS düzeyinin ise azaldığı gözlenmiştir (Tablo 8, Şekil 15-17).

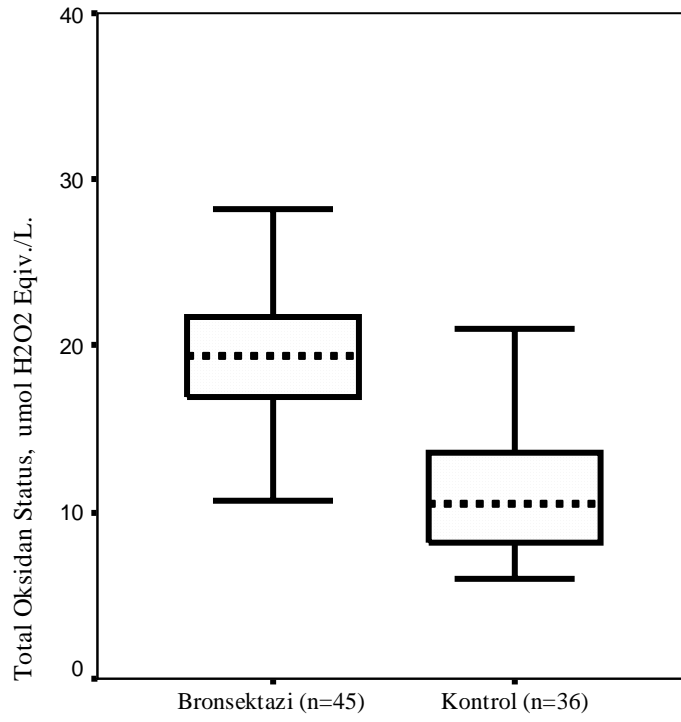
Tablo 8. Bronşektazi hastaları ve kontrol grubunun DNA hasarı ve oksidatif stres parametrelerinin karşılaştırılması

	Bronşektazi Vakaları(n=45)*	Kontrol (n:36) *	<i>p</i>
DNA hasarı(Arbitrary Unit)	13,8±8,1	3,86±1,97	<0,001
TOS (µmol H ₂ O ₂ Eqv./L)	19,6±4,9	11,62±3,98	<0,01
TAS (mmol Trolox Eqv./L)	0,87±0,11	0,96±0,13	<0,001
OSİ (Arbitrary Unit)	2,46±0,92	1,52±0,50	<0,001

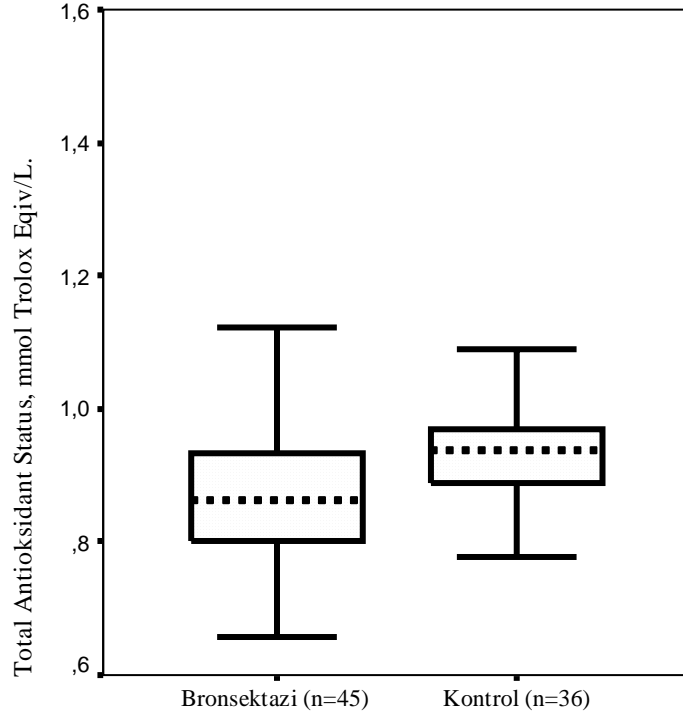
* Değerler ortalama±SS olarak verilmiştir.



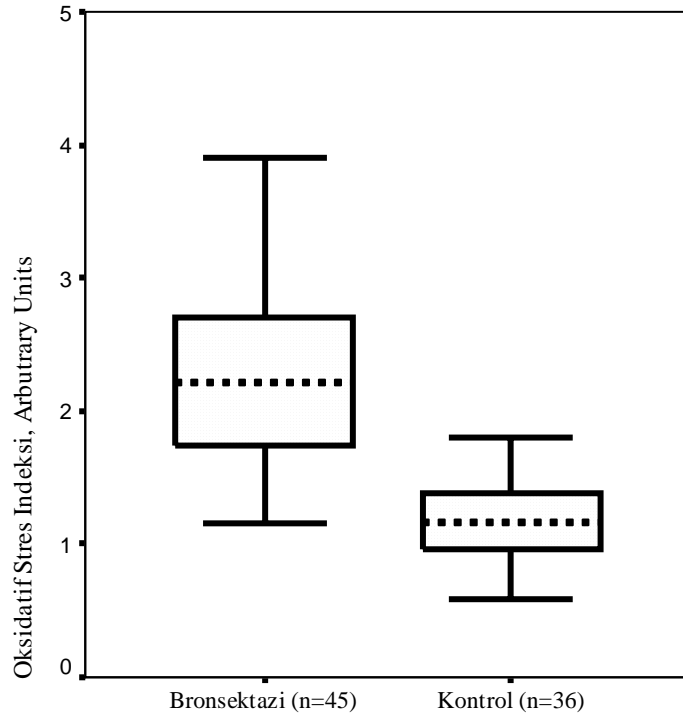
Şekil 14. Bronsektazi vakalarının ve kontrol grubunun DNA hasarı düzeyleri



Şekil 15. Bronsektazi vakalarının ve kontrol grubunun TOS düzeyleri



Şekil 16. Bronşektazi vakalarının ve kontrol grubunun TAS düzeyleri



Şekil 17. Bronşektazi vakalarının ve kontrol grubunun OSİ düzeyleri

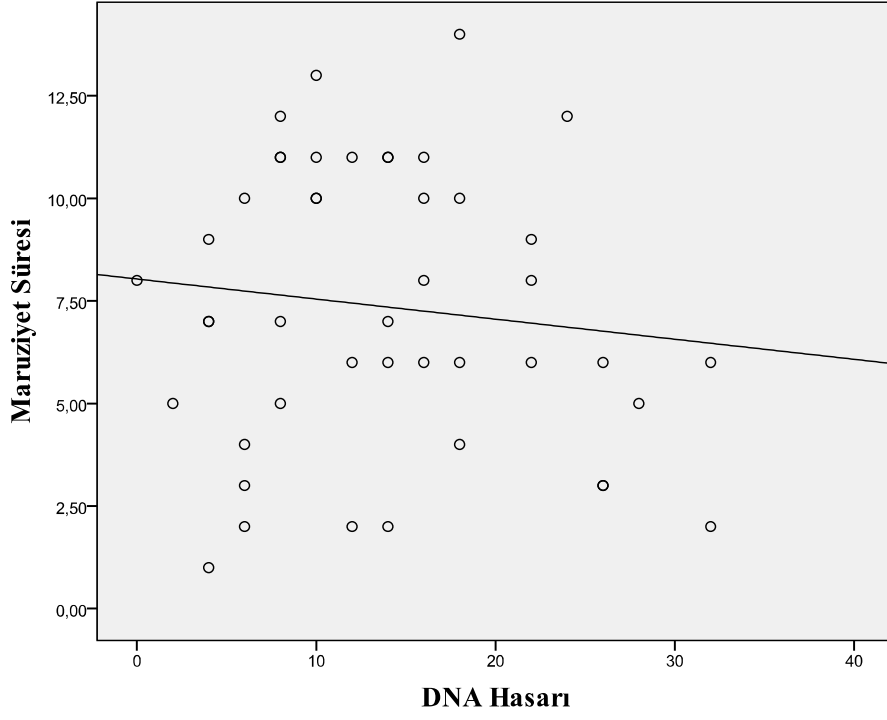
Kistik fibrozis dışı bronşektazi vakalarında Reiff skoru, hastalık maruziyet süresi, DNA hasarı, TAS, TOS, OSİ arasındaki korelasyon varlığı araştırıldı. Elde edilen sonuçlar Tablo 9'da grafiksel görünüm Şekil 18-21'de görülmektedir.

Tablo 9. Bronşektazi vakalarının DNA hasarı, oksidan-antioksidan sistem, hastalık maruziyet süresi ve Reiff skorlarına ait korelasyon değerleri

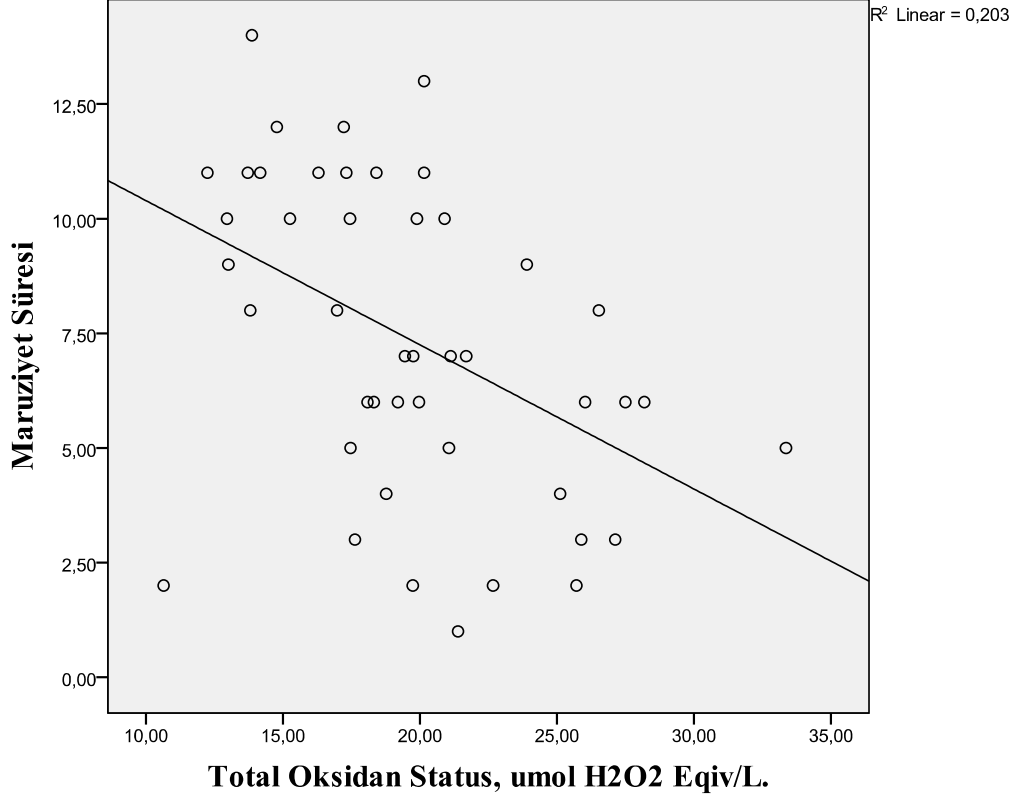
		Reiff Skoru	TOS	TAS	DNA Hasarı	OSI
Maruziyet	<i>r</i>	0,0149	-0,450	0,008	-0,116	-0,388
Süresi	<i>p</i>	0,330	0,002	0,960	0,449	0,008
Reiff Skoru	<i>r</i>	---	-0,235	-0,090	-0,185	-0,181
	<i>p</i>	---	0,120	0,555	0,223	0,233
TOS	<i>r</i>	---	---	-0,180	0,298	0,902
	<i>p</i>	---	---	0,236	0,046	0,000
TAS	<i>r</i>	---	---	---	-0,302	-0,565
	<i>p</i>	---	---	---	0,044	0,000
DNA Hasarı	<i>r</i>	---	---	---	---	0,373
	<i>p</i>	---	---	---	---	0,012

TOS: Total Oksidan Seviye, TAS: Total Antioksidan Statü, OSİ: Oksidatif Stres İndeksi

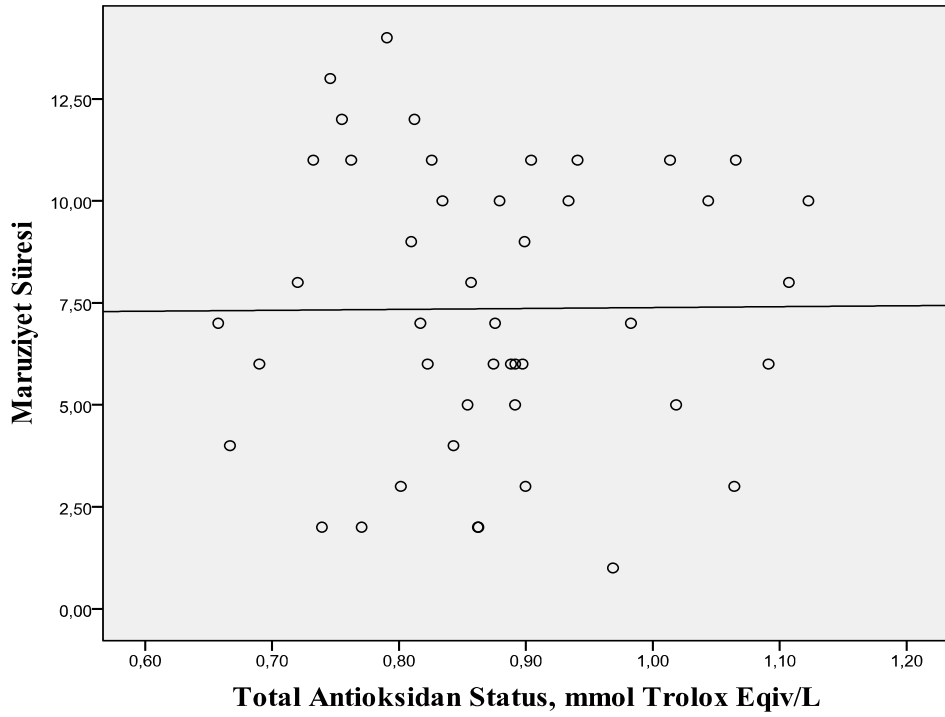
Kistik fibrozis dışı bronşektazi hastalarında hastalığa maruziyet süresiyle DNA Hasarı ve TAS arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı. Yine bronşektazi hastalarında maruziyet süresiyle TOS ve OSİ arasında negatif korelasyon saptandı. (Tablo 9, Şekil 18-21).



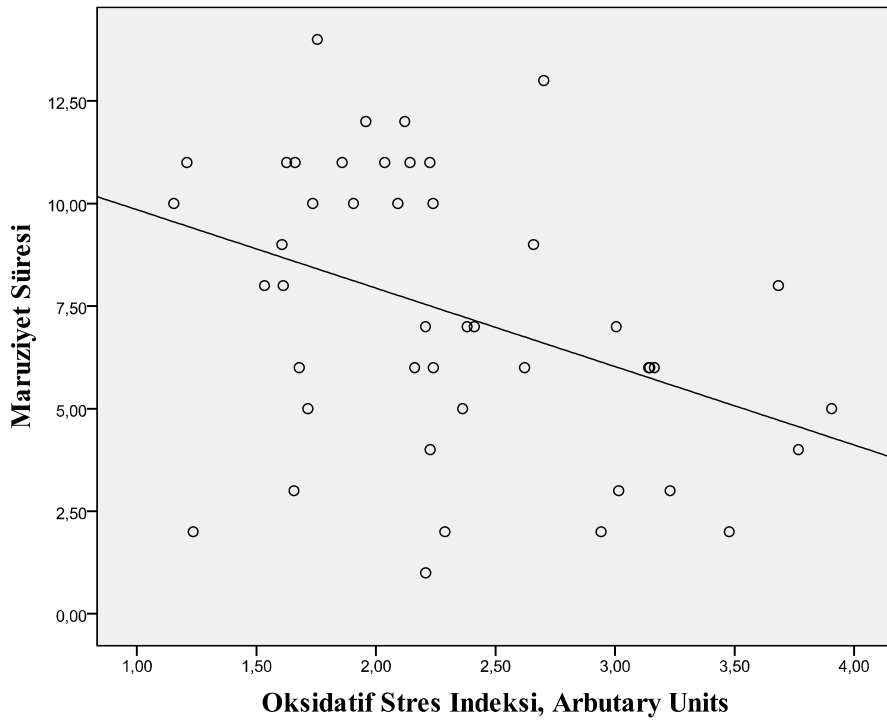
Şekil 18. Bronşektazi vakalarının maruziyet süresi ile DNA hasarı arasındaki korelasyon grafiği



Şekil 19. Bronşektazi vakalarının maruziyet süresi ile TOS arasındaki korelasyon grafiği

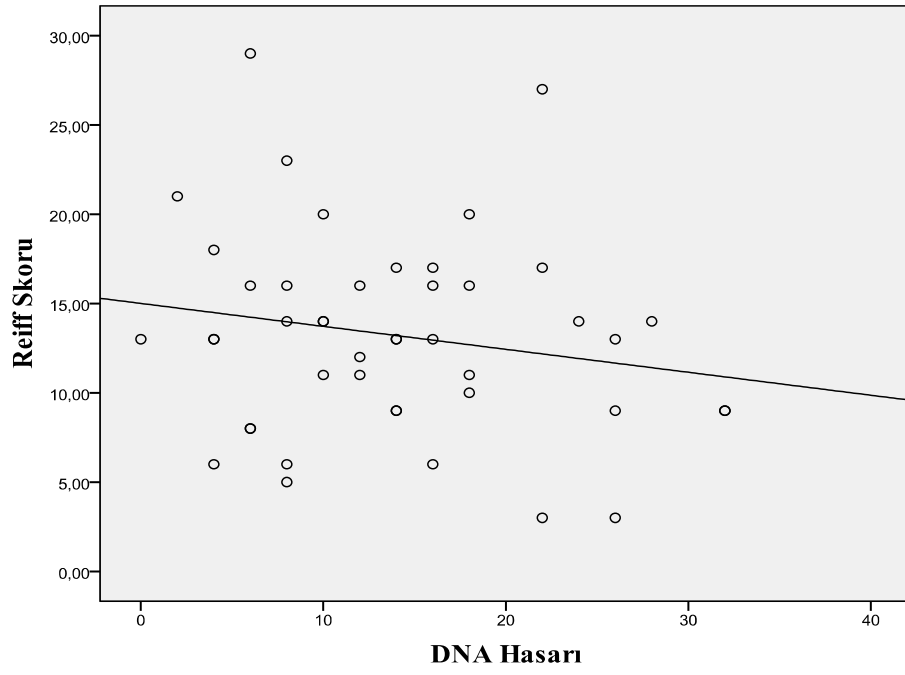


Şekil 20. Bronşektazi vakalarının maruziyet süresi ile TAS arasındaki korelasyon grafiği

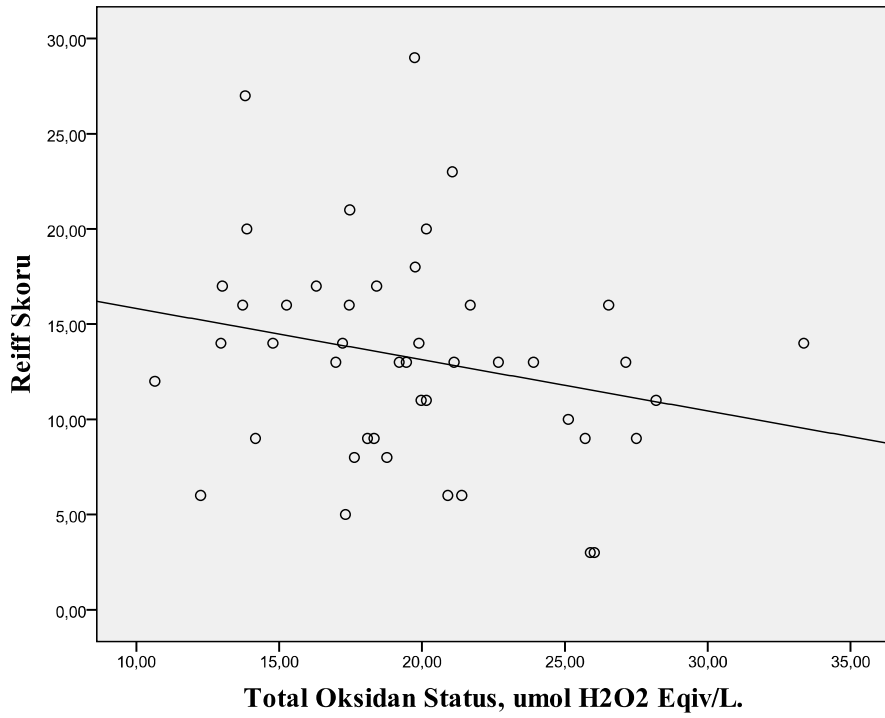


Şekil 21. Bronşektazi vakalarının maruziyet süresi ile OSİ arasındaki korelasyon grafiği

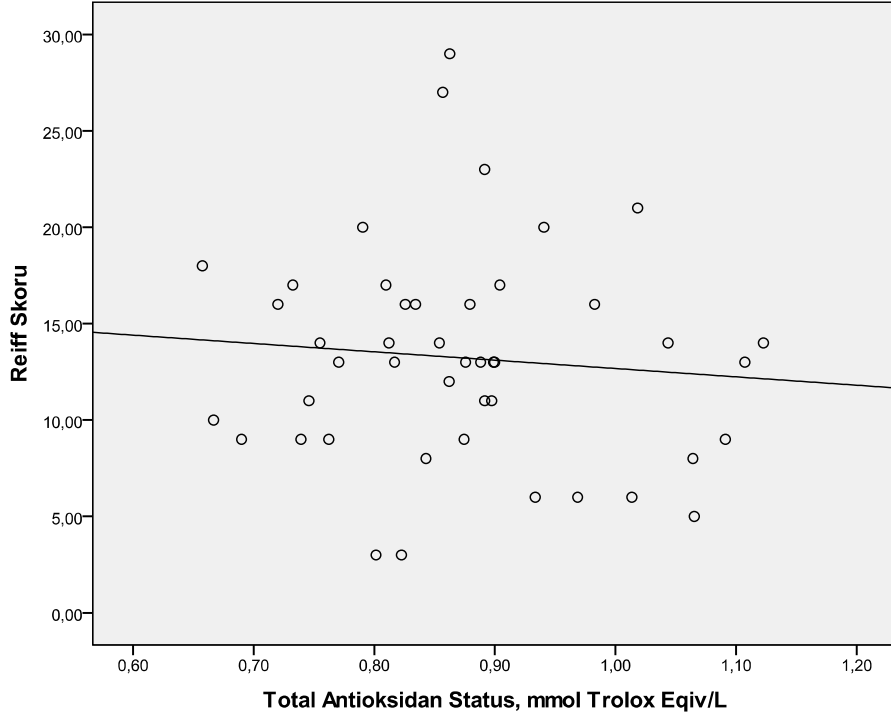
Kistik fibrozis dışı bronşektazi hastalarında Reiff Skoru ile DNA Hasarı, TAS, TOS, OSİ arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı. (Tablo 9, Şekil 22-25)



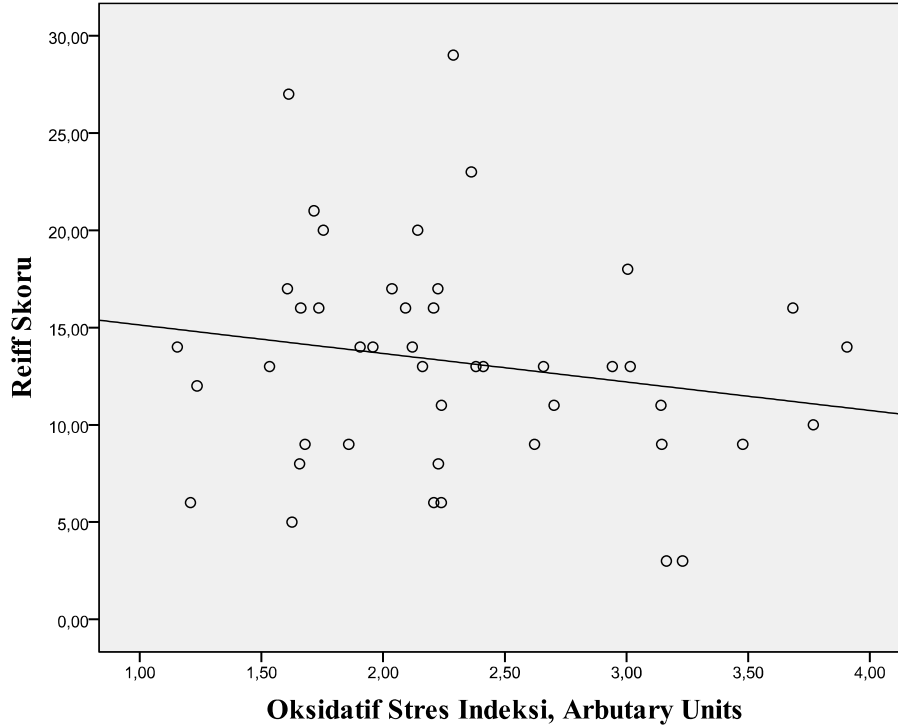
Şekil 22. Bronşektazi vakalarının Reiff Skoru ile DNA Hasarı arasındaki korelasyon grafiği



Şekil 23. Bronşektazi vakalarının Reiff Skoru ile TOS arasındaki korelasyon grafiği



Şekil 24. Bronşektazi vakalarının Reiff Skoru ile TAS arasındaki korelasyon grafiği



Şekil 25. Bronşektazi vakalarının Reiff Skoru ile OSİ arasındaki korelasyon grafiği

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bronşektazi, bronş duvarının anormal kalıcı dilatasyonu ile seyreden kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Sık geçirilen bakteriyel enfeksiyonlar ve hem bronşiyal hem de peribronşiyal dokularda inflamatuvar zedelenme ile karakterizedir (148).

Gelişmiş ülkelerde insidansı azalmakta ve bazı spesifik hastalıkların sonucu olarak gözlenmekte iken, gelişmekte olan ülkelerde ve ülkemizde tekrarlayan, iyi tedavi edilmeyen alt solunum yolu enfeksiyonları ve yüksek akciğer tüberkulozu prevalansı nedeniyle hala yaygın bir hastalık olarak görülmektedir (22).

Gelişmekte olan ülkelerde kabaca her 10.000 kişide 10-50 bronşektazi hastasına rastlanmakla birlikte insidans ve prevalansı hakkında çok sağlıklı bilgiler yoktur (22).

Bronşektazinin girişim yapılmadan değerlendirmesi, öykü, fizik muayene, balgamın mikrobiyolojik incelemesi ve radyolojik incelemeyi kapsar. Özellikle YRBT'nin bronşektazinin tanısında ve hastalığın ilerleyişinin izlenmesinde yararlı olduğu bilinmektedir (149).

Eastham ve arkadaşlarının (27) 93 pediatrik olguda yaptıkları çalışmada; kistik fibrozis olmayan bronşektazi etiyolojisinde %30 tekrarlayan akciğer enfeksiyonları, %21 immün yetmezlik veya immün süpresyon, %9 bronşiyolitisi obliterans, %5 konjenital akciğer anomalileri saptanmış olup, %18'i idiyopatik olarak değerlendirilmiştir.

Ülkemizde yapılan bir çalışmada; 141 olguluk seride %56 oranında postenfeksiyöz bronşektazi, %16 astım, %6 kistik fibroz, %5 primer immün yetersizlik bildirilmiştir (150)

Hastalarımızda bronşektazinin etyolojisini saptamak için yapılan tetkikler sonucunda (hemogram, ppd, serum immunglobulin ve alt grupları, en az 2 negatif ter testi, spesifik IgE, silyer yapı incelemesi, aspirasyon ve gastroözefajyal reflü çalışmaları, konjenital anomalilerin dışlanması, alfa-1-antitripsin) ancak %45'inde etyoloji aydınlatılabildiği görülmüştür. %14 immün yetmezlik, %11 astım, %11 silyer diskinezi, %5 GÖR, %2 post enfeksiyöz, %2 yabancı cisim olarak belirlenmiş olup %55 hastanın etyolojileri belirlenememiş ve idiyopatik olarak değerlendirilmiştir. Etiyolojik tanısı konulamayan hastaların oranı literatür verilerinin üzerindedir. Etiyoloji araştırılırken, bronşektazi hastalarında mutlaka yapılması gereken fleksible bronkoskopinin kliniğimizde yapılamaması idiyopatik hasta sayısının yüksek çıkmasına sebep olmuş olabilir.

Havayolu hastalıkları son dönemlerde inflamatuvar hastalıklar olarak düşünülmektedir. Havayolu inflamasyonu ile giden hastalıklarda ilk akla gelen bronşial astımdır. Ancak son çalışmalar ile KOAH ve bronşektazinin de inflamatuvar havayolu hastalıkları olduğu

belirlenmiştir ve havayolu inflamasyonu derecesi ile hastaların prognozunun direk korelasyon gösterdiği saptanmıştır (8,151,152). Bronşektazide bronş ve bronşiolde transmural enfeksiyon ve mediatör salınımı ile oluşan inflamasyon mevcuttur. Bronş mukoza biyopsilerinde inflamasyona sekonder nötrofil ve T lenfositler artmıştır (8).

Serbest oksijen radikallerinin (SOR), doku hasarı ve değişik hastalıkların etyopatogenezindeki rolü, son yıllarda tıpta giderek artan ilgi alanı oluşturmaktadır. Oksidatif stres, artmış oksidana maruz kalma ya da azalmış antioksidan kapasite olarak tanımlanabilir (13). Serbest radikaller biyolojik sistemlerde sürekli olarak üretilmektedir. Vücutta lipid, protein ya da DNA oksidasyonu gibi etkiler yapabilirler. Akciğerler, oksidan ajana maruz kalmayı minimum düzeye indirmek için antioksidanlara sahiptir, ancak serbest oksijen radikallerinin aşırı üretiminde ya da varlığında, bu koruyucu sistem yetersiz kalmakta ve oksidan hasar meydana gelmektedir (14).

Total antioksidan kapasitenin ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgiler vermektedir. Bu yüzden kanın antioksidan durumunu saptamada, bireysel antioksidanlardan çok bunların toplam antioksidan değerini veren toplam antioksidan kapasite ölçümü yaygınlaşmaktadır(153-154). Çalışmamızda oksidan/antioksidan sistem toplam olarak, daha önceden uluslar arası literatürde kabul görmüş ve yayınlanmış olan, Erel metodu ile değerlendirildi (155-156).

Kistik fibrozis dışı bronşektazili hastalarda yaptığımız bu çalışmada oksidan-antioksidan sistem değerlendirmesinde TOS, OSİ düzeylerinin kontrol grubuna göre arttığını, oksidatif hasarı nötralize etmeye yönelik antioksidan defans mekanizmasının yani TAS düzeyinin ise azaldığını saptadık.

Bu çalışma, bildiğimiz kadarıyla çocuklarda kistik fibrozis dışı bronşektazide oksidan-antioksidan sistemin değerlendirildiği ilk çalışmadır. Bu konuda başka bir çalışma olmadığı için çalışmalar düzeyinde değerlendiremiyoruz. Ama patogenezle ilgili bilgiler ve başka kronik inflamatuvar hastalıklarla ilgili yapılan çalışmalar oksidasyonun arttığını göstermektedir. Zeyrek D. ve arkadaşlarının (20) yaptığı çalışmada kronik inflamasyonla seyreden başka bir akciğer hastalığı olan astım hastalarında kontrol grubuna göre TAS,TOS ve OSİ düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı bildirilmiştir. Nadeem ve arkadaşları (157) yaptıkları benzer bir çalışmada da oksidan sistemle beraber antioksidan sistemin arttığını göstermişlerdir. Antioksidan sistem oksidan atağa cevap olarak aktive olur. Fakat kişilerin antioksidan defans kapasitesi genetik zeminde farklılık gösterebilir. Ercan H. ve arkadaşları (158) antioksidan cevapta genetik farklılığın olduğunu göstermişlerdir. Yapılan başka çalışmalarda da oksidatif stresin koruyucu mekanizma olan antioksidan kapasiteyi

arttırdığı görülmüştür (159,160). Kronik inflamasyonla giden çeşitli akciğer dışı hastalıklarda da oksidatif stresin arttığı bildirilmiştir. Oksidatif stresin moleküler ve hücrel doku hasarında rol oynayarak erişkinlerde ateroskleroz, karsinogenezis, astım, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, romatoid artrit ve psöriyazis gibi kronik inflamatuvar hastalıkların patogenezinde yer aldığı bilinmektedir (161-168). Çocuklarda ise yeni doğan döneminde kronik akciğer hastalığı, prematür retinopatisi, nekrotizan enterokolit ve neonatal hemokromatozis; daha büyük çocuklarda ise kistik fibrozis, juvenil romatoid artrit, kolestatik karaciğer hastalıkları, kwasiorkor ve diğer bazı hastalıkların oksidatif stresle ilişkili olduğu yapılan araştırmalarda ortaya konmuştur (169-175).

Kronik inflamasyondaki oksidatif stresin DNA hasarına neden olduğu gösterilmiştir. Artmış riskin moleküler temelini iki yönlü olduğu düşünülmüştür: Çevredeki epiteliyal hücrelerde DNA hasarına yol açan reaktif oksijen radikallerinin inflamatuvar makrofajlar tarafından üretimi ve inflamatuvar hücreler tarafından salgılanan sitokinlerin aracılık ettiği gelişmiş proliferatif sinyaller mutasyonlar için riskteki hücrelerin sayısını artırır (176).

Enflamasyon süresince oluşan SOR DNA ile etkileşerek hem bazların oksidasyonuna hem de DNA zincir kırıklarına neden olur ve bu durum genotoksik hasar olarak yorumlanır. Serbest radikaller; lipitler, proteinler ve DNA gibi molekülleri etkileyerek lipit peroksidasyonuna, protein oksidasyonuna ve DNA hasarına yol açmaktadır. DNA'da oksidatif hasar oluşturan radikaller OH^- ve O_2^- radikalleridir. OH^- radikali, DNA'daki dört bazın herhangi birine saldırı yapabilirken, O_2^- dal kırığından ziyade, guanine spesifik bağlanarak hasar oluşturur (153,177).

Oksidatif streste; organizmanın antioksidan savunma sistemini oluşturan enzimlerin adaptif cevap ile uyarıldıkları bilinmektedir (178-181). Aerobik organizmaların, mutasyonlardan korunabilmeleri ve yaşamlarını devam ettirebilmeleri için DNA onarım enzimlerinin doğru fonksiyon yapmaları mutlaka gereklidir. Düşük düzeylerde oksidatif DNA hasarı minimal hata riski ile etkin bir şekilde onarılabilmektedir. Ancak, DNA onarım enzimleri ve DNA polimeraz'ın oksidatif stres altında hasarlanmaları doğru replikasyon ve transkripsiyon olasılığını azaltmaktadır. Onarım tamamlanıncaya kadar, hücreler bölünmelerini genellikle durdurarak kendilerini korumaktadırlar. DNA'daki oksidatif hasar yaşam ile bağdaşmayan yüksek düzeylere ulaştığında hücre ölümü (apoptoz) veya genotoksik hasarlar gerçekleşmektedir (182-184). DNA'da dal kırıklarının oluşumundan sonra DNA onarım mekanizmasının bir komponenti olan NAD^+ bağımlı poli ADP riboz polimeraz enzimi (PARP) aktive olmakta ve DNA hasarı belirli bir düzeyi aştığında aşırı NAD^+ ve ATP tüketimi sonucunda hücre ölüme gitmektedir (183-185).

Yapılan çeşitli klinik çalışmalarda OS ve DNA hasarı arasında korelasyon olduğu ve DNA hasarının OS ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (20,186).

Son yıllarda çok sayıda çevresel ve enfeksiyöz nedenlerin sebep olduğu genetik hasarın incelenmesinde kullanılan metodlarda mononükleer lökositler geniş bir şekilde kullanılmaktadır (187). DNA hasarının ölçümü için kullanılan çeşitli metodlar dan biri olan sigle-cell jel elektroforezi (comet assay) DNA da meydana gelen dal kırılmalarının ölçülmesi için kullanılan çok duyarlı ve güçlü bir metottur. Bizde çalışmamızda DNA hasarının ölçümü için bu metodu kullandık (143). Hasta grubunda DNA hasarını $13,8\pm 8,1$ AU, kontrol grubunda DNA hasarı $3,86\pm 1,97$ AU olarak bulduk ve hasta grubunda DNA hasarı istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p<0,001$).

Biz çalışmamızda kistik fibrozis dışı bronşektazili hastalarda mononükleer hücre DNA hasarı ile oksidatif stres parametrelerini ölçerek hastalık ile DNA hasarı ve oluşan hasarın oksidatif stres ile olan ilişkisini araştırdık ve DNA hasarının bronşektazili hastalarda arttığını, DNA hasarı ile oksidatif stres arasında istatistiksel olarak anlamlı bir pozitif korelasyonun olduğunu gösterdik.

Bu çalışma, bildiğimiz kadarıyla çocuklarda kistik fibrozis dışı bronşektazide DNA hasarı ve TAS, TOS ve OSİ ile arasındaki korelasyonu araştıran ilk çalışmadır.

Reiff skorunu kullanarak değerlendirdiğimiz hastalığın şiddetiyle TAS, TOS, OSİ ve DNA hasarını karşılaştırdık. Kistik fibrozis dışı bronşektazi hastalarında Reiff skoru ile DNA hasarı, TAS, TOS ve OSİ arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptamadık.

Kistik fibrozis dışı bronşektazi hastalarında hastalığa maruziyet süresiyle TOS ve OSİ arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon saptadık. Maruziyet süresi ile DNA Hasarı ve TAS arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptamadık.

Bronşektazi çeşitli etyolojilerle ortaya çıkan kronik gidişli bir hastalıktır. Fakat bu hastaların çoğunda altta yatan etyoloji akciğerde ilerleyici hasara neden olmamakta ve stabil durumdadırlar. Aynı zamanda tedavi altındadırlar. Ayrıca Reiff skoru radyolojik bir değerlendirmedir, biyolojik bir olay olmadığı için fonksiyonel ölçümle korele olmayabilir. Bu nedenle Reiff skoru yüksek çıkmakla birlikte DNA hasarı ve oksidatif stres normal saptanmış olabilir. Ayrıca hastalığa maruz kalınan süre uzadıkça antioksidan mekanizmaların devreye girip TOS ve OSİ yi azalttığı ve buna bağlı olarakta DNA hasarının azaldığı düşünülebilir.

Hastalığın süresi ve şiddetiyle TAS, TOS, OSİ ve DNA hasarı ilişkisi bu tür hastalarda inflamasyonun erken dönemde saptanıp tedavi edilmesinin akciğerde oluşacak kronik

değişiklikleri önleme açısından önemli olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca bronşektazinin kronik hastalık olmasından dolayı çocukluk çağında solunum sisteminde meydana gelen değişikliklerin kalıcı olması bronşektazinin erken zamanda tedavi edilmesini zorunlu kılmaktadır.

N-Asetilsistein, intraselüler sistein ve glutatyonun öncüsüdür. Antioksidan özellikleri geniş bir yelpaze göstermektedir. Hemen hemen 40 yıldır, glutatyonun azalması ve redoks durumunda değişiklikler ile ilişkili çok çeşitli klinik durumların profilaksi ve tedavisinde kullanımı ile ilgili deneyim bulunmaktadır. Son zamanlarda da çeşitli hastalıklarla N-Asetilsisteinin antioksidan özellikleri ile ilgili çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Örneğin; Voghel ve arkadaşları şiddetli koroner hastalığı olan aterosklerotik hastalarda N-Asetilsistein kullanımının endotel hücre yaşlanmasını geciktirdiğini ve lipid peroksidasyonunu azalttığını göstermişlerdir (188).

N-Asetilsistein'in DNA'yı hasardan koruma ve karsinogenezis ile ilgili etki mekanizmaları nükleofilik özelliği, antioksidan aktivitesi, mitokondri üzerindeki etkileri, antikanserojen etkileri, gen ekspresyonu ve sinyal iletimini düzenleyici etkisi apoptozisi düzenleyici etkisi, antiinflamatuvar ve daha birçok olumlu etkisi ile ilişkilidir (189).

Kirschvink N. ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada antioksidan diyetin rekurrent hava yolu obstruksiyonlu atların akciğer fonksiyonunu havayolu inflamasyonunu, oksidan-antioksidan dengeyi düzenleyerek iyileştirdiğini göstermişlerdir (190). Heaton ve arkadaşları köpeklerde antioksidan diyetin endojen ve eksojen oksidatif DNA hasarını azalttığını göstermişlerdir (191,192).

Oksidan-antioksidan sisteme olumlu yönde etki eden yukarıda bahsettiğimiz N-Asetilsistein gibi ajanların ve antioksidan diyetin bronşektazi tedavisinde kullanılmasının bu hastalarda DNA hasarının önüne geçilebileceğini düşündürmektedir.

Bizim çalışmamız ve yapılan çeşitli çalışmalarda inflamasyonla giden kronik hastalıklarda DNA hasarının arttığı gösterilmiştir. Fakat bunun klinik önemi ve yapacağı kısa ve uzun vadeli etkileri tam olarak bilinmemektedir.

Vücuttaki hücrelerin yeterli derecede farklılaşmaya uğramaksızın, kontrolsüz ve hızlı bir şekilde bölünmeleri ile kendini gösteren ve patolojik bir durum olan kanserin başlangıcında ve ileriki safhalarında oksidatif DNA hasarının etkili olması nedeniyle Oksidatif DNA hasarı büyük öneme sahiptir. Bu hasarlanmanın ardından kromozom yıkılması ve yeniden düzenlenmesi, mitoz kontrolü bozulmuş bir fenotipin üretilmesine yol açmaktadır. DNA'nın nükleik asitleri ile reaksiyona giren serbest radikaller, DNA zincirinde kırılmalar meydana getirmekte ve bu hücrelerin kanser hücrelerine dönüşmesine yol açmaktadırlar. Yapılan

çalışmalarda da DNA hasarı ile kanser oluşumu arasında direkt bir ilişkinin olduğu gösterilmiştir. Jaruga ve ark. (193) insan akciğer kanseri dokusunda SOD ve katalaz aktivitesinde düşüş ve DNA lezyon düzeyinde artış tespit ederek olası kanser sebebinin serbest radikaller olduğunu göstermişlerdir.

Gansu Province ve ark. (194) yaptığı bir çalışmada, Çin de ocak 1994 ve nisan 1998 yılları arasında akciğer kanseri tanısıyla 656 erkek ve 230 kadın toplam 886 hasta üzerinde yapılan çalışma da, kronik bronşit, amfizem, astım, pnömoni, tüberküloz gibi primer akciğer hastalıkları ve bozulan akciğer fonksiyonlarının akciğer kanseri riskini genel olarak arttırdığını göstermişlerdir (195,196). Bu bilgiler ışığında bronşektazili çocuklarda oluşan DNA hasarı kanser riskini arttırabilir. İleride yapılacak çeşitli kohort çalışmalarda bronşektazili çocuklarda oluşan DNA hasarı ile kanser gelişimi arasında ilişkinin saptanmasının bu bulguların önemini daha fazla arttıracağını düşünüyoruz.

Sonuç olarak bu çalışma ile ilk defa bronşektazili çocuklarda oksidatif stres ve DNA hasarının yüksek olduğunu saptadık. Bizim bulgularımız sağlıklı kontrollerin sonuçlarıyla karşılaştırıldığında; kistik fibrozis dışı bronşektazili çocuklarda görülen oksidatif stresin düzeyindeki artışla, DNA hasarı arasında bir ilişki olduğunu düşündürmektedir.

Fakat çalışmamız vaka kontrol çalışması olması nedeniyle hastaların kontrol edildiği sıradaki durumunu göstermektedir. Bu çocuklarda yapılacak olan uzun izlemli çalışmaların bulgularımızın, prognoz ve tedavide önemli olup olmayacağı konusunda daha fazla bilgi vereceğini düşünüyoruz.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamız sonucunda kistik fibrozis dışı bronşektazi hastalarında total oksidan seviyenin arttığı, total antioksidan kapasitenin azaldığı ve dolayısıyla oksidatif stres indeksinin belirgin düzeyde arttığı saptanmıştır.

Çalışmamız sonucunda kistik fibrozis dışı bronşektazi hastalarında DNA hasarında artış saptanmıştır. Bronşektazi hastalarında DNA hasarı ile total oksidan seviye, oksidatif stres indeksi arasında pozitif ilişki; DNA hasarı ile total antioksidan kapasite arasında negatif ilişki saptanmıştır.

Hastaların radyolojik durumlarını gösteren Reiff skorları ile DNA hasarı, total antioksidan seviye, total oksidan seviye ve oksidatif stres indeksi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptamadık.

Kistik fibrozis dışı bronşektazi hastalarında hastalığa maruziyet süresiyle TOS ve OSİ arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon saptadık. Maruziyet süresi ile DNA Hasarı ve TAS arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptamadık.

Bu hastalarda serbest radikal üretiminin azaltılması ve DNA hasarının yavaşlatılması bronşektazi hastalarındaki klinik ilerlemenin yavaşlamasına katkıda bulunabilir. Bu amaçla kistik fibrozis dışı bronşektazi hastalarında antioksidan kapasiteyi arttırmak için doğal veya sentetik antioksidanların kullanımı önerilebilir.

Elde ettiğimiz sonuçların kistik fibrozis dışı bronşektazi hastalarında oksidan-antioksidan sistem ve DNA hasarı ile ilgili yeni çalışmalara ışık tutacağı kanaatindeyiz.

7- KAYNAKLAR

- 1- Barker AF. Bronchiectasis. *N Engl J Med.* 2002;346:1383–1393.
- 2- King PT, Holdsworth SR, Freezer NJ, Villanueva E, Holmes PW. Characterisation of the onset and presenting clinical features of adult bronchiectasis. *Respir Med.* 2006;100:2183–2189.
- 3- Stillwell PC. Bronchiectasis. In: Gerald M Loughlin, Howard Eigen (eds). *Respiratory Diseases in Children-Diagnosis and Management.* Baltimore: Williams&Wilkins, 1994: 307-13.
- 4- Callahan CW, Redding GJ. Bronchiectasis in children: orphan disease or persistent problem? *Pediatric Pulmonology* 2002; 33(6): 492-496.
- 5- Gaga M, Bentley AM, Humbert M, et al. Increases in CD4+ T lymphocytes, macrophages, neutrophils and interleukin 8 positive cells in the airways of patients with bronchiectasis. *Thorax* 1998; 53(8): 685-91.
- 6- Tsang KW, Chan K, Ho P, et al. Sputum elastase in steady-state bronchiectasis. *Chest* 2000; 117(2): 420-6.
- 7- Shum DK, Chan SC, Ip MS. Neutrophil-mediated degradation of lung proteoglycans: stimulation by tumor necrosis factor-alpha in sputum of patients with bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162(5): 1925-31.
- 8- Angrill J, Agusti C, de Celis R, Filella X, Elena AR, de la Bellacasa JP, Xaubet A, TorresA. Bronchial inflammation and colonization in patients with clinically stable bronchiectasis. *Am J respir Crit Care Med* 2001; 164: 1628-1632
- 9- Zheng L, Shum H, Tipoe GL, et al. Macrophages, neutrophils and tumour necrosis factor-alpha expression in bronchiectatic airways in vivo. *Respir Med* 2001; 95(10): 792-8.
- 10- Stockley RA, Bayley D, Hill SL, Hill AT, Crooks S, Campbell EJ. Assessment of airway neutrophils by sputum colour: correlation with airways inflammation. *Thorax* 2001; 56(5): 366-72.
- 11- Tsang KW, Ho PL, Lam KW, et al. Inhaled fluticasone reduces sputum inflammatory indices in severe bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158(3): 723-7.

- 12- Horvath I, Donnelly LE, Kiss A et al. Raised levels of exhaled carbon monoxide are associated with an increased expression of heme oxygenase-1 in airway macrophages in asthma: a new marker of oxidative stress. *Thorax* 1998; 53:668-672.
- 13- Horvath I, Donnelly LE, Kiss A et al. Combined use of exhaled hydrogen peroxide and nitric oxide in monitoring asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;158;1042-1046.
- 14- Vural H, Uzun K, Erel U. Antioxidant status and lipid peroxidation in asthma. *Solunum Hastalıkları* 1999;10:77-83. Vural H, Uzun K, Erel U. Antioxidant status and lipid peroxidation in asthma. *Solunum Hastalıkları* 1999;10:77-83.
- 15- Jarjour NN, Calhoun WJ. Enhanced production of oxygen radicals in asthma. *J Lab Clin Med.* 1994;123:131-7.
- 16- Hatch GE. Asthma, inhaled oxidants, and dietary antioxidants. *Am J Clin Nutr.* 1995; 61(suppl):625S-30S.
- 17- Levine RL: Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging and disease. *Free Radical Biol Med* 2002; 32: 790-796. Marnett LJ: Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. *Toxicology* 2002; 181–182 : 219 – 222.
- 18- 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.
- 19- Hasbal C, Aksu BY, Himmetoglu S, Dincer Y, Koc EE, Hatipoglu S, Akcay T. DNA damage and glutathione level in children with asthma bronchiale: effect of antiasthmatic therapy. *Pediatr Allergy Immunol.* 2010 Jun;21(4 Pt 2):e674-8.
- 20-Zeyrek D, Cakmak A, Atas A, Kocyigit A, Erel O. DNA damage in children with asthma bronchiale and its association with oxidative and antioxidative measurements. *Pediatr Allergy Immunol.* 2009 Jun;20(4):370-376.
- 21- Swartz MN. Bronchiectasis. In: Fishman AP, Elias JA, Fishman JA, Grippi MA, Kaiser LR, Senior RM (eds). *Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders.* 3rd edition. Philadelphia: the McGraw-Hill co, 1998: 2045-70.
- 22- Fishman AP. Bronchiectasis. Fishman AP, Elias JA, Grippi MA, Kaiser LR, Senior RM, editors. *Fishman's pulmonary diseases and disorders.* 3rd ed. New York: McGraw-Hill; 1998. p. 2045-69.
- 23- Brown MA, Lemen RJ. Bronchiectasis. In: Chernick V, Boat T, Kendig E (eds). *Kendig's disorders of the respiratory tract in children.* 6th edition. Philadelphia: W.B. Saunders Co., 1998: 538-52.

- 24- Saynajakangas O, Keistinen T, Tuuponen T, Kivela SL. Bronchiectasis in Finland:Trends in hospital treatment. *Respir Med* 1997;91:395–8.
- 25- Tsang KW, Tipoe GL. *Int J Tuberc Lung Dis* 2004; 8: 691-702
- 26- Nikolaizik WH, Warner JO. *Arch Dis Child* 1994; 70: 141-142.
- 27- Eastham KM, Fall AJ, Mitchell L, Spencer DA. The need to redefine non-cystic fibrosis bronchiectasis in childhood. *Thorax* 2004;59:324–7
- 28- Ferkol TW, Davis PB. Bronchiectasis and bronchiolitis obliterans. In: Taussig LM, Landau LI, Le Souef PN, Morgan WJ, Martinez FD, Sly PD (eds). *Pediatric Respiratory Medicine*, Missouri:1999, Mosby Inc.,784-792
- 29- İlvan A, Bozkanat E, Kartaloğlu Z. Son 5 yıl içinde bronkografi ile tanı konmuş bronşektazi olgularının değerlendirilmesi. *Solunum* 1995;19:842-7.
- 30- N. Kapur, B. Karadag. Differences and similarities in non-cystic fibrosis bronchiectasis between developing and affluent countries. *Paediatric Respiratory Reviews* 12 (2011) 91–96
- 31- Reid LM. Reduction in bronchial subdivision in bronchiectasis. *Thorax* 1950; 5(3): 233-47.
- 32- Wigglesworth FW. Bronchiectasis, an evaluation of present concepts. *McGill Med J* 1955; 24(4): 189-200.
- 33- Paul K. Pathogenesis of bronchiectasis *Paediatric Respiratory Reviews* 12 (2011) 104–110
- 34- Cole PJ. Inflammation: a two-edged sword—the model of bronchiectasis. *Eur J Respir Dis Suppl* 1986;147:6–15.
- 35- Barker AF. Bronchiectasis. *New Engl J Med* 2002;346:1383-93
- 36- Boyton RJ. Bronchiectasis. *Medicine* 2008; 36: 315–20.
- 37- Chang AB, Redding GJ, Everard ML. Chronic wet cough: protracted bronchitis, chronic suppurative lung disease and bronchiectasis. *Pediatr. Pulmonol.* 2008; 43: 519–31.)
- 38- Li AM, Sonappa S, Lex C et al. Non-CF bronchiectasis: does knowing the aetiology lead to changes in management? *Eur. Respir. J.* 2005; 26: 8–14.
- 39- Karadag B, Karakoc F, Ersu R, Kut A, Bakac S, Dagli E. Non-cystic fibrosis bronchiectasis in children: a persisting problem in developing countries. *Respiration* 2005; 72: 233–8.)
- 40- Chang AB, Redding GJ, Everard ML. Chronic wet cough: protracted bronchitis, chronic suppurative lung disease and bronchiectasis. *Pediatr. Pulmonol.* 2008; 43: 519–31.
- 41- Chang AB, Landau LI, van Asperen PP et al. Cough in children: definitions and clinical evaluation. *Thoracic Society of Australia and*

- New Zealand Position Statement. *Med. J. Aust.* 2006; 184: 398–403.
- 42- Fall A, Spencer D. Paediatric bronchiectasis in Europe: what now and where next. *Paediatr. Respir. Rev.* 2006; 7: 268–74.
- 43- King P, Holdsworth S, Freezer N, Holmes P. Bronchiectasis. *Intern. Med. J.* 2006; 36: 729–37.
- 44- Field CE. Bronchiectasis in childhood I. Clinical survey of 160 cases. *Pediatrics* 1949; 4: 21.
- 45- Dagi E. Non cystic fibrosis bronchiectasis. *Paediatric Respiratory Reviews* 2000; 1: 64-70.
- 46--McGuinness G, Naidich DP. Bronchiectasis: CT/clinical correlations. *Semin Ultrasound CT MR* 1995; 16(5): 395-419.
- 47- Silverman PM, Godwin JD. CT/bronchographic correlations in bronchiectasis. *J Comput Assist Tomogr* 1987; 11(1): 52-6.
- 48- Munro NC, Cooke JC, Currie DC, Strickland B, Cole PJ. Comparison of thin section computed tomography with bronchography for identifying bronchiectatic segments in patients with chronic sputum production. *Thorax* 1990; 45(2): 135-9.
- 49- Eshed I, Minski I, Katz R, et al. Bronchiectasis: correlation of high-resolution CT findings with health-related quality of life. *Clin Radiol* 2007;62: 152–9.
- 50- Martinez-Garcia MA, Soler-Cataluna JJ, Perpina- Tordera M, et al. Factors associated with lung function decline in adult patients with stable noncystic fibrosis bronchiectasis. *Chest* 2007;132: 1565–72.
- 51- Desai SR, Wells AU, Cheah FK, Cole PJ, Hansell DM. The reproducibility of bronchial circumference measurements using computed tomography. *Br J Radiol* 1994; 67(795): 257-62.
- 52- Kang EY, Miller RR, Muller NL. Bronchiectasis: comparison of preoperative thin-section CT and pathologic findings in resected specimens. *Radiology* 1995; 195(3): 649-54.
- 53- Lynch DA, Newell J, Hale V, et al. Correlation of CT findings with clinical clinical evaluations in 261 patients with symptomatic bronchiectasis. *Am J Roentgenol* 1999;173:53-8.
- 54- Thomas RD, Blaquiére RM. Reactive mediastinal lymphadenopathy in bronchiectasis assessed by CT. *Acta Radiol* 1993; 34(5): 489-91.

- 55- Loubeyre P, Paret M, Revel D, Wiesendanger T, Brune J. Thin-section CT detection of emphysema associated with bronchiectasis and correlation with pulmonary function tests. *Chest* 1996; 109(2): 360-5.
- 56- Pifferi M, Caramella D, Bulleri A, et al. Pediatric bronchiectasis: correlation of HRCT, ventilation and perfusion scintigraphy, and pulmonary function testing. *Pediatr Pulmonol* 2004; 38:298–303
- 57- Redding GJ. Childhood bronchiectasis around the world. *Oral Presentations/ Paediatric Respiratory Reviews* 2010;S1-78.11.
- 58- inal A, Karakoç GB, Yılmaz M. ve ark. Kistik fibrozis -dışı bronşektazili çocukların klinik ve radyolojik özellikleri. *Çocuk sağlığı ve hastalıkları dergisi* 2009.
- 59- Cartier Y, Kanavangh PV, Johkoh T, Mason AC, Muller NL. Bronchiectasis: accuracy of high-resolution CT in the differentiation of specific diseases. *Am J Roentgenol* 1999;173:47-52.
- 60- Edwards EA, Metcalfe R, Milne DG, Thompson J, Byrnes CA. Retrospective review of children presenting with non cystic fibrosis bronchiectasis: HRCT features and clinical relationships. *Pediatr Pulmonol* 2003; 36(2): 87-93.
- 61- Dakin CJ, Pereira JK, Henry RL, Wang H, Morton JR. Relationship between sputum inflammatory markers, lung function, and lung pathology on high-resolution computed tomography in children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2002; 33(6): 475-82.)
- 62- Chang AB, Masel JP, Boyce NC, Wheaton G, Torzillo PJ. Non-CF bronchiectasis: clinical and HRCT evaluation. *Pediatr Pulmonol* 2003; 35(6): 477-83.
- 63- Twiss J, Stewart AW, Byrnes CA. Longitudinal pulmonary function of childhood bronchiectasis and comparison with cystic fibrosis. *Thorax* 2006;61:414–8.
- 64- Bahous J, Cartier A, Pineau L, et al. Pulmonary function tests and airway responsiveness to methacholine in chronic bronchiectasis of the adult. *Bull Eur Physiopathol Respir* 1984; 20(4): 375-80.
- 65- Murphy MB, Reen DJ, Fitzgerald MX. Atopy, immunological changes, and respiratory functions in bronchiectasis. *Thorax* 1984; 39(3): 179-84.
- 66- Zheng L, Shum H, Tipoe GL, et al. Macrophages, neutrophils and tumour necrosis factor-alpha expression in bronchiectatic airways in vivo. *Respir Med* 2001; 95(10): 792-8

- 67- Carlos TM, Harlan JM. Leukocyte-endothelial adhesion molecules. *Blood* 1994; 84: 2068–2101
- 68- Zheng L, Tipoe G, Lam WK, et al. Up-regulation of circulating adhesion molecules in bronchiectasis. *Eur Respir J* 2000; 16: 691–696.
- 69- Zuyderduyn S, Ninaber DK, Schrupf JA, et al. IL-4 and IL-13 exposure during mucociliary differentiation of bronchial epithelial cells increases antimicrobial activity and expression of antimicrobial peptides. *Respir Res* 2011;12:59.
- 70- Angrill J, Agusti C, De Celis R, et al. Bronchial inflammation and colonisation in patients with clinically stable bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164 (9): 1628-32.
- 71-Bonfield TL, Konstan MW, Burfeind F, Panuska JR, Hilliard JB, Berger M. Normal bronchial epithelial cells constitutively produce the anti-inflammatory cytokine interleukin-10, which is downregulated in cystic fibrosis. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1995; 13(3): 257-61.
- 72-Bonfield TL, Panuska JR, Konstan M, et al. Inflammatory cytokines in cystic fibrosis lungs. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152(6 Pt 1): 2111-18.
- 73-Salva PS, Doyle NA, Graham L, Eigen H, Doerschuk CM. TNF-alpha, IL-8, soluble ICAM-1, and neutrophils in sputum of cystic fibrosis patients. *Pediatr Pulmonol* 1996; 21(1): 11-19.
- 74-Heuertz RM, Ahmed N, Webster RO. Peptides derived from C-reactive protein inhibit neutrophil alveolitis. *J Immunol* 1996; 156(9): 3412-17.
- 75-Tilg H, Dinarello CA, Mier JW. IL-6 and APPs: anti-inflammatory and immunosuppressive mediators. *Immunol Today* 1997; 18(9): 428-32.
- 76- Schaaf B, Wieghorst A, Aries SP, Dalhoff K, Braun J. Neutrophil inflammation and activation in bronchiectasis: comparison with pneumonia and idiopathic pulmonary fibrosis. *Respiration* 2000; 67(1): 52-9.
- 77-Mikami M, Llewellyn-Jones CG, Bayley D, Hill SL, Stockley RA. The chemotactic activity of sputum from patients with bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157(3 pt 1): 723-8.
- 78-Keatings VM, Collins PD, Scott DM, Barnes PJ. Differences in interleukin-8 and tumor necrosis factor-alpha in induced sputum from patients with chronic obstructive pulmonary disease or asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153(2): 530-4.

- 79- Anticevich SZ, Hughes JM, Black JL, Armour CL. Induction of hyperresponsiveness in human airway tissue by neutrophils--mechanism of action. *Clin Exp Allergy* 1996; 26(5): 549-56.
- 80- Wilson CB, Jones PW, O'Leary CJ, et al. Systemic markers of inflammation in stable bronchiectasis. *Eur Respir J* 1998; 12(4): 820-4.
- 81- O'Donnell AE, Barker AF, Ilowite JS, Fick RB. Treatment of idiopathic bronchiectasis with aerosolized recombinant human DNase I. RhDNase Study Group. *Chest* May 1998; 113(5): 1329-34.
- 82- L-Redding GJ. Update on Treatment of Childhood Bronchiectasis unrelated to Cystic-Fibrosis. *Paediatr Respir Rev* 2011;12(2):119-123
- 83- Ramsey BW, Dorkin HL, Eisenberg JD, et al. Efficacy of aerosolized tobramycin in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1993;328:1740-6.
- 84- Karakoç F, Dagli E, Günay I, et al. The outcome and long-term follow-up of children with bronchiectasis. *Eur Respir J* 1997; 10: 338.
- 85- Cymbala AA, Edmonds LC, Bauer MA, et al. The disease modifying effects of twice-weekly oral azithromycin in patients with bronchiectasis. *Treat Respir Med* 2005;4:117-22.
- 86- Evans DJ, Bara AI, Greenstone M. Prolonged antibiotics for purulent bronchiectasis in children and adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; 2(CD001392)
- 87- Watson J.D. and Crick F.H.C. (1953). "A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid". *Nature* 171: 737-738. doi:10.1038/171737a0. PMID 13054692.
- 88- The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1962 Nobelprize .org Accessed 22 Dec 06.
- 89- Watson J, Crick F (1953). "Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid". *Nature* 171 (4356): 737-8.
- 90- Berg J., Tymoczko J. and Stryer L. (2002) *Biochemistry*. W. H. Freeman and Company ISBN 0-7167-4955-6.
- 91- Venter J, et al. (2001). "The sequence of the human genome". *Science* 297: 1304-51.
- 92- Douki T, Reynaud-Angelin A, Cadet J, Sage E (2003). "Bipyrimidine photoproducts rather than oxidative lesions are the main type of DNA damage involved in the genotoxic effect of solar UVA radiation". *Biochemistry* 42 (30): 9221-6.

- 93- Cadet J, Delatour T, Douki T, Gasparutto D, Pouget J, Ravanat J, Sauvaigo S (1999). "Hydroxyl radicals and DNA base damage". *Mutat Res* 424 (1–2): 9–21.
- 94- Shigenaga M, Gimeno C, Ames B (1989). "Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a biological marker of in vivo oxidative DNA damage". *Proc Natl Acad Sci USA* 86 (24): 9697–701.
- 95-Cathcart R, Schwieters E, Saul R, Ames B (1984). "Thymine glycol and thymidine glycol in human and rat urine: a possible assay for oxidative DNA damage". *Proc Natl Acad Sci USA* 81 (18): 5633–7.
- 96- Valerie K, Povirk L (2003). "Regulation and mechanisms of mammalian double-strand break repair". *Oncogene* 22 (37): 5792–812.
- 97- Van den Akker E, Lutgerink JT, Laqueur MVM, Joenje H. Retel J. *Mutat. Res.* 1994; 309: 45–52.
- 98-Steenken S. Purine bases, nucleosides, and nucleotides: aqueous solution redox chemistry and transformation reactions of their radical cations and e- and OH adducts. *J. Chem. Rev.* 1989; 89(24):503–520.
- 99- Halliwell B, Dizdaroglu M. Free radicals and the oxidant/antioxidant balance *J. Free Radical Res.* 1992; 16: 75–87.
- 100- Yanik M, Erel O, Kati M. The relationship between potency of oxidative stress and severity of depression. *Acta Neuropsychiatr.* 2004;16:200-203.
- 101- Berliner JA, Heinecke JW. The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. *Free Radic Biol Med.* 1996;20:707-727.
- 102-Omar BA, Mc Cord JM. Interstitial equilibration of superoxide dismutase correlates with its protective effect in the isolated rabbit heart. *J Mol Cell Cardiol.* 1991;23:149-159.
- 103-Asami S, Manabe H, Miyake J, Tsurudome Y, Hirano T, Yamaguchi R, Itoh H, Kasai H. Cigarette Smoking induces an increase in oxidative damage, 8- hydroxydeoxyguanosine, in a central site of the human lung. *Carcinogenesis.* 1997; 18- 1763-1766
- 104- Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. *Annu Rev Nutr.* 1996;16:33-50

- 105- Kuppusamy UR, Dharmani M, Kanthimathi MS, Indran M. Antioxidant enzyme activities of human peripheral blood mononuclear cells exposed to trace elements. *Biol Trace Elem Res.* 2005;106:29–40.
- 106-Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.* 1995;41:1819–1828.
- 107-Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull.* 1993;49:479–480.
- 108- Meister A. Glutathione, ascorbate, and cellular protection. *Cancer Res.*1994;54(7 Suppl):1969-1975.
- 109- Southorn P, Powis G. Free radical in medicine I. Chemical nature and biological reactions. *J. Mayo Clin. Proc.* 1988;63(3):381 –388.
- 110- Kılınc K, Kılınc A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp dergisi.* 2002;33(2):110-118.
- 111-McCord JM: Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem.* 1993;26:351–357.
- 112- Ripine JE, Bast A, Lankharst. Lipids and The Oxidative Strees Study Group: Oxidative stres in chronic obstructive pulmonary disease. *J Respir Crit Care Med.* 1997;156:341–347.
- 113- 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.
- 114- Halliwell B. Vitamin C: antioxidant or pro-oxidant in vivo? *Free Radic Res.* 1996;25: 439-454.
- 115-Food and Nutrition Board, Institute of Medicine Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids. A report of the panel on dietary antioxidants and related compounds, subcommitees on upper reference levels of nutrients and interpretation and uses of dietary reference intakes. Washington DC. National Academy Press. 2000;p.1-506.

- 116-Chaudiere J, Ferrari-Iliou R. Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms. *Food Chem Toxicol.*1999;37:949-962.
- 117- Gutteridge JMC, Halliwell B. Antioxidants in nutrition, health and disease. 1st ed. New York. Oxford University Press. 1994.
- 118- Buonocore G, Perrone S, Bracci R. Free radicals and brain damage in the newborn. *Biol Neonate.* 2001;79:180-186.
- 119-Buhimschi IA, Buhimshi CS, Pupkin M et al. Beneficial impact of term labor: nonenzymatic antioxidant reserve in the human fetus. *Am J Obstet Gynecol.* 2003;189: 181-188.
- 120- Scandalios JG: The rise of ROS. *TRENDS in Biochemical Sciences.* 2002;27:483-486.
- 121- Akkuş I. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya;Mimoza yayınları, 1995;42-45.
- 122- Zhao J, Liu XJ, Ma JW et al. DNA damage in healthy term neonate. *Early Hum Dev.* 2004;77:89-98.
- 123- Fang Y-Z, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants and nutrition. *Nutrition.* 2002;18:872-879.
- 124- Rose RC, Bode AM. Biology of free-radical-scavengers- an evaluation of ascorbat. *FASEB J.*1993;7:1135-1142.
- 125- Carr A, Frei B. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? *FASEB J.* 1999;13:1007-1024.
- 126- Suh J, Zhu BZ, Frei B. Ascorbate does not act as apro-oxidant toward lipids and proteins in human plasma exposed to redox-active transition metal ions and hydrogen peroxide. *Free Radic Biol Med.* 2003;34:1306-1314.
- 127- Notrthrop-Clewes CA, Thurnham DI. Monitoring micronutrients in cigarette smokers. *Clinica Chimica Acta.* 2007;377:14-38.
- 128- Chow CK. Vitamin C and cigarette smoke exposure. In: Packer L, Fuchs J, editors. *Vitamin C in health and disease.* New York: Marcel Dekker Inc. 1997;p:413-424.

- 129- Makarov VG, Makarova M, Selezneva AI. Studying the mechanism of antioxidant effect of vitamins and flavonoids. *Vopr Pitan.* 2005;74:10-13.
- 130- Burton G, Traber M. Antioxidants action of carotenoids. *J. Nutr.* 1989;119:109-111.
- 131- Polidori MC, Stahl W, Eichler O, Niestroj I, Sies H: Profiles of antioxidants in human plasma. *Free Radic Biol Med.* 2001;30(5):456–462.
- 132- Serafini M, Del Rio D (2004) Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool?. *Redox Report* 9(3), 145-152.
- 133- Repin JE, Bast A, Lankhorst I. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. Oxidative Stress Study Group. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 341–357
- 134- MacNee W, Rahman I. Is oxidative stress central to the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease? *Trends Mol Med* 2001; 7: 55–62.
- 135- Loukides S, Horvath I, Wodehouse T, Cole PJ, Barnes PJ. Elevated levels of expired breath hydrogen peroxide in bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 991–994.
- 136- Loukides S, Bouros D, Papatheodorou G, Lachanis S, Panagou P, Siafakas NM. Exhaled H₂O₂ in steady-state bronchiectasis: relationship with cellular composition in induced sputum, spirometry, and extent and severity of disease. *Chest* 2002; 121: 81–87.
- 137- Hensen PM, Johnston RB. Tissue injury in inflammation. *J Clin Invest* 1987; 79: 669–674.
- 138- Loukides S, Bouros D, Papatheodorou G, Lachanis S, Panagou P, Siafakas NM. Exhaled H₂O₂ in steady-state bronchiectasis: relationship with cellular composition in induced sputum, spirometry, and extent and severity of disease. *Chest* 2002; 121: 81–87.
- 139- Reiff DB, Wells AU, Carr DH, et al. CT findings in bronchiectasis: limited value in distinguishing between postinfectious and specific types. *AJR Am J Roentgenol* 1995; 165:261–267
- 140- Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry*, 2004; 277–285
- 141- Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.*, 2005; 38(12):1103-11.

- 142- Harma M, Harma M, Erel O. Oxidative stress in women with preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol*, 2005; 192:656-7.
- 143-Singh NP, Danner DB, Tice RR, Pearson JB, Brant LJ, Schneider EL. DNA damage and repair with age in individual human lymphocytes. *J. Mutat Res.*1990; 237(8):123-30.
- 144-Ostling O, Johanson KJ. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1984; 123(11):291-8.
- 145-Jaruga P, Birincioglu M, Rodriguez H, Dizdaroglu M. Mass spectrometric assays for the tandem lesion 8,5-cyclo-2-deoxyguanosine in mammalian DNA. *J. Biochemistry* 2002; 41(1): 73-88.
- 146-Kocyigit A, Keles H, Selek S, Guzel S, Celik H, Erel O. Increased DNA damage and oxidatve stress in patients with cutaneous leishmaniasis. *J. Mutation Research* 2005; 124(5): 47-59.
- 147-Demirbag R, Yilmaz R, Gur M, Kocyigit A, Celik H, Guzel S, Selek S. Lymphocyte DNA damage in patients with acute coronary syndrome and its relationship with severity of acute coronary syndrome *J. Mutation Research* 2005;135(4) 22-35.
- 148- Boren EJ, Teuber SS, Gershwin ME. A review of noncystic fibrosis pediatric bronchiectasis. *Clin Rev Allergy Immunol* 2008; 34: 260-273
- 149- Hansell DM. Bronchiectasis. *Radiol Clin North Am* 1998; 36: 107-128).
- 150- Camcıoğlu Y. Bronşektazide etyoloji. 3. Ulusal Çocuk Solunum Yolu Hastalıkları Kongresi Kongre Kitabı; 7-10 Nisan 2004; Kuşadası, İzmir 2004:127-8.
- 151- Gan WQ, Man SFP, Senthilselvan A, Sin DD. Association between chronic obstructive pulmonary disease and systemic inflammation: a systemic review and a meta-analysis. *Thorax* 2004; 59: 574-580
- 152- Donaldson GC, Seamungal TAR, Patel IS, BhowmikA, Wilkinson TMA, Hurst JR, MacCallum PK, Wedzicha JA. Airway and systemic inflammation and decline in lung function in patients with COPD. *Chest* 2005; 128: 1995-2004
- 153- Minnet C. Çocukluk çağında B12 vitamin eksikliğinin oksidan antioksidan sistem ve DNA hasarı ile ilişkisi. Uzmanlık tezi, 2006.
- 154- Romay C, Pascual C and 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: 175-83.
- 155- Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *J. Clinical Biochemistry*, 2004. 37:112-9.

- 156- Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *J. Clinical Biochemistry*. 2005. 47:119-29.
- 157- Liao MF, Chen CC, Hsu MH. Evaluation of the serum antioxidant status in asthmatic children. *Acta Paediatr Taiwan* 2004; 45: 213–7.
- 158- Ercan H, Birben E, Dizdar EA, et al. Oxidative stress and genetic and epidemiologic determinants of oxidant injury in childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118: 1097–104.
- 159- Jenkins RR. Free radical chemistry: relationship to exercise. *Sports Med* 1988; 5: 156–70.
- 160- Sen CK. Oxidants and antioxidants in exercise. *J Appl Physiol* 1995; 79: 675–86.
- 161- Harris ML, Schiller JH, Reilly PM, Donovan M, Grisham MB, Bulkley GB. Free radicals and other reactive oxygen metabolites in inflammatory bowel disease. *Pharmacol Ther*. 1992;53:375–408
- 162- Kohen R, Fauberstein D, Tirosh O. Reducing equivalents in the aging process. *Arch Gerontol Geriatr*. 1997;24:103–123
- 163- Jacques PF, Cylack LT, McGandy RB, Hartz SC. Antioxidant status in persons with and without senile cataract. *Arch Ophthalmol*. 1988;106:337–340
- 164- Harats D, Ben-Naim M, Dabach Y, et al. Effect of vitamin D and E supplementation on susceptibility of plasma lipoproteins to peroxidation induced by acute smoking. *Atherosclerosis*. 1990;85:47–54
- 165- Schwartz KB. Oxidative stress during viral infection (a review). *Free Rad Biol Med*. 1996;21:641–649
- 166- Powell CVE, Nash AA, Powers HJ, Primhak RA. Antioxidant status in asthma. *Pediatr Pulmonol*. 1994;18:34–38
- 167- Haklar G, Vegenaga I, Yalcin AS. Evaluation of oxidant stress in chronic hemodialysis patients (use of different parameters). *Clin Chim Acta*. 1995;234:109–114
- 168- Stone WL, Papas AM. Tocopherols and the etiology of colon cancer. *J Natl Cancer Inst*. 1997;89:1006–1014
- 169- Cooke RWI. Factors associated with chronic lung disease in preterm infants. *Arch Dis Child*. 1991;66:776–77
- 170- Kjellmer I. Mechanisms of perinatal brain damage. *Ann Med*. 1991;23:675–679
- 171- Sigurdsson L, Reyes J, Kocoshis SA, Hansen TW, Rosh J, Knisely AS. Neonatal hemochromatosis (outcomes of pharmacologic and surgical therapies). *J Pediatr Gast Nutr*. 1998;26:85–89

- 172- Babin F, Lemonnier F, Goguelin A, Alagille D, Lemonnier A. Plasma fatty acid composition and lipid peroxide levels in children with paucity of interlobular bile ducts. *Ann Nutr Metab.* 1988;32:220–230
- 173- Portal B, Richard MJ, Coudray C, Arnaud J, Favier A. Effect of double-blind cross-over selenium supplementation on lipid peroxidation markers in cystic fibrosis patients. *Clin Chim Acta.* 1995;234:137–146
- 174- Golden MHN, Ramdath D. Free radicals in the pathogenesis of kwashiorkor. *Proc Nutr Soc.* 1987;46:53–68
- 175- Sklodowska M, Gromadzinska J, Biernacka M, et al. Vitamin E, thiobarbituric acid reactive substance concentrations and superoxide dismutase activity in the blood of children with juvenile rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol.* 1996;14:433–439
- 176- Sanders SP, Zweier JL, Harrison SJ, Trush MA, Rembish SJ, Liu MC. Spontaneous oxygen radical production at sites of antigen challenge in allergic subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 1725–33.
- 177- Cadet J, Douki T, Gasparutto D, Ravanat J-L. Oxidative damage to DNA: Formation, measurement and biochemical features. *Mutat Res,* 2003. 531: 5-23.
- 178- Corrocher R, Casaril M, Bellisola G, et al. Severe impairment of antioxidant system in human hepatoma. *Cancer* 1986;58: 1658-1662.
- 179- Mantha S V, Prasad M Kaka J, Prasad K. Antioxidant enzymes in hypercholesterolemia and effects of vitamin E in rabbits. *Atherosclerosis* 1993;101:135-144.
- 180- McCoy R.N., Hill K E, Ayon M A, Stein J H, Burk R F. Oxidant stress following renal ischemia: Changes in the glutathione redox ratio. *Kidney Int* 1988;33:8127.
- 181- Shacter E. Protein oxidative damage. *Methods Enzymol* 2000; 319: 428-436.
- 182- Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free Radicals in Biology and Medicine.* 3rd ed. Oxford University Press. Inc, London 1999.
- 183- Halliwell B, Aruoma OI. DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS Letters* 1991; 281: 9-19.
- 184- Winyard PG, Perrett D, Blake DR, Harris G, Chipman JK. Measurement of DNA oxidation products. *Anal Proceedings* 1990; 27: 224- 227.
- 185- Li Y, Trush MA. Reactive O₂-dependent DNA damage resulting from the oxidation of phenolic compounds by a copper-redox cycle mechanism. *Cancer Res* 1994; 54: 1895S
- 186- Altindag O, Karakoc M, Kocyigit A, Celik H, Soran N. Increased DNA damage and oxidative stress in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Biochem* 2007;40:167-71

- 187- J.Cole, T.R. Skopek, international commission for protection against environmental mutagens and carcinogens. Working paper no.3. Somatic mutant frequency, mutation rates and mutational spectra in the human population in vivo, *Mutant. Res.* 304 :1994 :33-105
- 188- Voghel G, Thorin-Trescases N, Farhat N, et.al. Chronic treatment with N-acetyl-cysteine delays cellular senescence in endothelial cells isolated from a subgroup of atherosclerotic patients. *Mechanisms of Ageing and Development.* 2008; 12: 261-270.
- 189- Flora S, Izzotti A, Agostini F, Balansky RM. Mechanisms of N-acetylcysteine in the prevention of DNA damage and cancer, with special reference to smoking related end-points. *Carcinogenesis.* 2001; 22: 999-1013.
- 190- Kirschvink, N., Fievez, L., Bougnet, V., Art, T., Degand, G., Smith, N., Marlin, D., Roberts, C., Harris, P. & Lekeux, P. (2002) Effect of nutritional antioxidant supplementation on systemic and pulmonary antioxidant status, airway inflammation and lung function in heaves-affected horses. *Equine Vet. J.* 34: 705–712.
- 191- Heaton, P. R., Ransley, R., Charlton, C. J., Mann, S. J., Stevenson, J., Smith, B. H., Rawlings, J. M. & Harper, E. J. (2002) Application of single-cell gel electrophoresis (comet) assay for assessing levels of DNA damage in canine and feline leukocytes. *J. Nutr.* 132: 1598S–1603S.
- 192- Heaton, P. R., Reed, C. F., Mann, S. J., Ransley, R., Stevenson, J., Charlton, C. J., Smith, B. H., Harper, E. J. & Rawlings, J. M. (2002) Role of dietary antioxidants to protect against DNA damage in adult dogs. *J. Nutr.* 132:1720S–1724S.
- 193- Tang ZP. Observation on the activity of superoxide dismutase and catalase of alveolar macrophage in patient with lung cancer. *Chung- Hua- Chieh-Ho-Ho-Hu Hsi-Taa-Chih* 1991; 14:213-215.
- 194- Alina V Brenner, Zuoyuan Wang, Ruth A Kleinerman, Longde Wang, Shouzhi Zhang, Catherine Metayer, Katherine Chen, Suwen Lei, Hongxing Cui and Jay H Lubin. Previous pulmonary diseases and risk of lung cancer in Gansu Province, China. *International Journal of Epidemiology* .2001;30:118-124
- 195- Zheng W, Blot WJ, Liao ML et al. Lung cancer and prior tuberculosis infection in Shanghai. *Br J Cancer* 1987;56:501-04
- 196- Mayne ST, Buensejo J, Janerich DT, Previous lung disease and risk of lung cancer among men and women nonsmokers. *Am J Epidemiol* 1999;149:13-20.