

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KOAH'LI HASTALARDA NİTRİK OKSİT VE
MALONDİALDEHİT DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Biyolog
Yadullah ERDEM

YÜKSEKLİSANS TEZİ

Danışman
Prof. Dr. Ayla ÖZCAN

2013-KARS

TC
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Yadullah ERDEM tarafından hazırlanmış olan **KOAH'lı Hastalarda Nitrik Oksit ve Malondialdehit Düzeylerinin Araştırılması** adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sonucunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmenliği uyarınca değerlendirilerek oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 05 / 06 / 2013

Adı Soyadı:

İmza:

Başkan: Prof. Dr. Ayla ÖZCAN

.....

Üye: Doç. Dr. Onur ATAKİŞİ

.....

Üye: Yard. Doç. Dr. Metin ÖĞÜN

.....

Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/
..... /..... gün ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mehmet ÇİTİL
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Simgeler ve Kısaltmalar	I
Grafik Dizini	V
Tablolar Dizini	VI
Şekiller Dizini	VII
Önsöz	VIII
1.GENEL BİLGİLER	1
1.1. Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı	1
1.1.1. KOAH'ta Epidemiyoloji	1
1.1.2. KOAH'ta Morbidite ve Mortalite	3
1.1.3. KOAH'ta Etyopatogenez	3
1.1.4. KOAH'ta Sınıflandırma	5
1.1.5. KOAH'ta Risk Faktörleri	7
1.1.5.1. Sigara	9
1.1.5.2. Mesleki Maruziyet	9
1.1.5.3. Alfa – 1 Antitripsin Eksikliği	10
1.1.5.4. Hava Kirliliği	10
1.1.5.5. Düşük Doğum Ağırlığı	11
1.1.5.6. Cinsiyet, Irk ve Yaş	11
1.1.5.7. Sosyoekonomik Durum	11
1.2. Serbest Radikaller	12
1.3. Nitrik Oksit	15
1.4.Lipit Peroksidasyonu	19
1.5. Antioksidanlar	22
2. MATERYAL VE METOT	25
2.1. Kan Örneklerinin Toplanması ve İşlenmesi	25
2.2. Plazmada MDA Tayini	25
2.2.1. Deneyin Prensibi	26

2.2.2. Deneyde Kullanılan Çözeltiler	26
2.2.3. Deneyin Yapılışı	27
2.2.4. Sonuçların Hesaplanması	28
2.3. Plazmada Nitrik Oksit Tayini	28
2.3.1. Deneyin Prensibi	28
2.3.2. Deneyde Kullanılan Çözeltiler	29
2.3.3. Numunelerin Deproteinize Edilmesi	31
2.3.4. Nitrat Analizinin Yapılışı	31
2.3.5. Nitrit Analizinin Yapılışı	32
2.3.6. Sonuçların Hesaplanması	33
3. BULGULAR	34
4. TARTIŞMA	36
5. ÖZET	40
6.SUMMARY	42
7.KAYNAKLAR	44
8.ÖZGEÇMİŞ	57
9.TEŞEKKÜR	58

SİMGELER VE KISALTMALAR

AAT	: Alfa-1 Antitripsin
B4 (LTB4)	: Lökotrien
BHA	: Bütil Hidroksianisol
BHT	: Bütil Hidroksitoluen
cAMP	:Siklik Adenin Monofosfat
cGMP	:Siklik Guanozin Monofosfat
CAT	: Katalaz
CD8	: Cluster of Differentiation 8
Cu	: Bakır
CuSO₄	: Bakır Sülfat
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EC-SOD	: Ekstrasellüler SOD
EDRF	: Endotel kaynaklı gevşeme faktörü
eNOS	: Endotelyal NOS
FAD	: Flavin Adenin Dinükleotit
Fe	: Demir
FEV1	: Fecal Expiratory Volume 1.second
FVC	: Fecal Volume Capacity
g	: Gram
GMP	:Guanozin Monofosfat

GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon Peroksidaz
GSSG	: Okside Glutasyon
GST	:Glutasyon-S-Transferaz
GTP	:Guanozin Trifosfat
H₂O⁺	: Uyarılmış Su Molekülü
H₂O₂	:Hidrojen Peroksit
HCl	: Hidroklorik Asit
HO₂⁻	: Hidroperoksil Radikali
IL-8	:Interlökin 8
iNOS	: İndüklenebilir NOS
KOAH	: Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı
L	: Litre
LDL	: LowDensityLipoprotein
LPO	: Lipit peroksidasyonu
LTB₄	: Lökotrien B ₄
MDA	: Malondialdehit
ml	: Mililitre
mmol/l	: Milimol/litre
MMP	:Matriks Metalloproteinazlar
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat
NaNO₂	: Sodyum Nitrit

NaNO₃	: Sodyum Nitrat
NaOH	: Sodyum Hidroksit
NDGA	: Nordihidroguaiaretik Asit
NEDD	: N-(1-Naftil) Etilen Diamine Dihidroklörür
NO₂⁻	: Nitrit
NO₂	: Nitrojen Dioksit
NO₃⁻	: Nitrat
NO	: Nitrik Oksit
NOS	: Nitrik Oksit Sentaz
O₂⁻	: Süperoksit Radikali
OH⁻	: Hidroksil Radikali
R⁻	: Alkoksil Radikali
RNA	: Ribonükleik Asit
ROO⁻	: Peroksi radikali
ROOH	: Hidroperoksit
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SFT	: Solunum Fonksiyon Testi
SH	: Sülfidril
SOD	: Süperoksit Dismutaz
TBA	: Tiyobarbütirik Asit
TCAA	: Triklorasetik Asit
TNF-α	: Tumor Nekroz Faktörü- α

VaCl₃ : Vanadyum III Klorür

WHO : Dünya Sağlık Örgütü

Grafik Dizini

Grafik 1. MDA Düzeyinin Saptanmasında Kullanılan Kalibrasyon Eğrisi

Grafik 2. Nitrat Düzeyinin Saptanmasında Kullanılan Kalibrasyon Eğrisi

Grafik 3. Nitrit Düzeyinin Saptanmasında Kullanılan Kalibrasyon Eğrisi

Grafik 4. KOAH'lı Hastalarda MDA düzeyleri

Grafik 5. KOAH'lı Hastalarda NO düzeyleri

Tablolar Dizini

Tablo 1.KOAH'da Sınıflandırma

Tablo 2.KOAH'da Risk Faktörleri

Tablo 3. MDA Ölçüm Yöntemi

Tablo 4. Nitrat Ölçüm Yöntemi

Tablo 5.Nitrit Ölçüm Yöntemi

Tablo 6. KOAH'lı Hastalarda MDA ve NO Düzeyleri

Şekiller Dizini

Şekil 1. Nitrik Oksidin Sentezi

Şekil 2. Lipit Peroksidasyonu ve MDA Oluşumu

Önsöz

Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH), genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle gelişen, kronik ve progressif bir hastalıktır. Patogenezinde, hava yollarının iltihabı ile birlikte, hava akımı obstrüksiyonu ve parankim harabiyeti söz konusudur.

KOAH'ın etyopatogenezinde oksidatif stresin kritik bir rol oynadığı bildirilmiş; oksidatif stres oluşumundan inflamatuvar hücrelerden salınan reaktif oksijen türlerinin (ROT) sorumlu olduğu öne sürülmüştür. Oksidatif stresin inflamatuvar respiratuvar hastalığın başlaması ve ilerlemesine katkıda bulunduğu düşünülmektedir. İnsan organizması dışarıdan alınan ve organizmada endojen olarak oluşan oksidanlara hayat boyu maruz kalmaktadır. KOAH'ta oksidanlar lehine bozulan oksidan-antioksidan dengesinde, oksidanların kaynağı sigara dumanı, aktive nötrofil ve makrofaj gibi inflamatuvar hücrelerden salınan maddelerdir. Eksojen olarak hava kirliliği, sanayi gazları ve sigara dumanı ile dış ortamdan ulaşırken, metabolik aktiviteler ve fagositoz sonucu oluşan oksidanlar da endojen yolla organizmanın oksidan yükünü artırmaktadır.

Birçok kronik hastalığın etyopatogenezi ile ilişkili ve lipit peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA), oksidatif strete görülen bir belirteç olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Nitrik oksit (NO), organizmada pek çok farklı fonksiyon üstlenen, prooksidan ve antioksidan özellikler gösterebilen bir moleküldür.

Bu çalışmada, oksidatif stresin bir belirteci olan MDA ile organizmada değişik fonksiyonlar üstlenen, literatürde de KOAH ile ilişkisi konusunda

değişik sonuçlar rapor edilmiş olan NO düzeylerinin araştırılması amaçlanmıştır.

1.GENEL BİLGİLER

1.1. Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı

Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH), zararlı partikül ve gazların kronik inhalasyonu sonucu akciğerlerde oluşan anormal inflamatuvar yanıtın neden olduğu, ilerleyici hava akımı obstrüksiyonu ile karakterize bir hastalıktır. Akciğerlerde oluşan kronik inflamasyon; büyük ve küçük hava yolları ile akciğer parankimini etkileyerek kronik bronşit, amfizem ve yerleşik hava akımı obstrüksiyonu gelişimine yol açmaktadır. KOAH'ta kronik bronşit ve amfizem genellikle bir arada bulunmaktadır. Genetik olarak duyarlı kişilerin uygun çevresel risk faktörleri ile uzun süre karşılaşması hastalık gelişimine neden olmaktadır **(39)**.

KOAH'ın en önemli semptomları; efordispnesi, kronik öksürük, balgam ve hışıltılı solunumdur **(45)**. Kronik öksürük ve balgam çıkarma, genellikle hava akımı kısıtlanması gelişmeden yıllar önce başlasa da, tüm vakalarda KOAH gelişmeyebilir. Semptomların varlığı ve akciğer fonksiyonlarının ölçümü ile sağlanan tanı, spirometre ile doğrulanır. KOAH tanısını kesinleştirmek için, standart bir spirometrik inceleme yapılması konusunda gereken çaba harcanmalıdır **(57)**.

1.1.1. KOAH'ta Epidemiyoloji

KOAH'a ait solunum semptomları ve fizik muayene bulguları ile hastalığın şiddeti arasında her zaman paralellik olmayabilir. Öyle ki, solunum fonksiyon testleri (SFT) ileri derecede bozuk olan hastalarda bile semptomlar çok az ya da hiç olmayabilir. Bu nedenle, hastalığın tanısının güçleşmesi ve hastaların kayıt altına alınamamaları, semptom prevalansı ve morbidite

verilerinin güvenilirliğini zayıflatmaktadır. Yapılan çalışmalar, KOAH hastalarının sadece %25'inin bir sağlık kuruluşuna kayıtlı olduğunu göstermektedir **(39)**. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde 1996'da, 16 milyon KOAH hastasının bulunduğu bildirilsede gerçek sayının 22 milyon civarında olduğu tahmin edilmektedir. Son raporlara göre, Avrupa ve Kuzey Amerika'da yetişkin bireylerdeki genel prevalansın % 4-10 arasında olduğu bildirilmiştir **(3)**. ABD'de 25-75 yaş grubu genel popülasyonu temsil eden geniş bir örneklem grubunda 1988-1994 yılları arasında yapılan NHANES III (National Health and Nutrition Examination Survey) çalışmasında hafif KOAH prevalansı %6.9, orta şiddette ise %6.6 olarak bulunmuştur. Yine aynı çalışmada, beyaz erkekler arasında KOAH prevalansı sigara içicilerde %14.2, sigarayı bırakanlarda %6.9 ve hiç içmeyenlerde ise %3.3, beyaz kadınlarda ise, bu oran sırasıyla %13.6 , %6.8 , %3.1 olarak bildirilmiştir **(3)**. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 1990 yılı verilerine göre, hastalık prevalansı, tüm dünyada erkeklerde binde 9.34, kadınlarda binde 7.3 iken, 2000'li yıllarda yapılan çalışmalarla artık önemini yitirmiştir **(3, 39, 44)**.

Ülkemizde Sağlık Bakanlığı verilerine göre, tüm hastanelere KOAH ve astım tanısıyla yatırılan hasta oranı, 1997'de yüzbinde 203'tür ve 2000 yılında 156.354 hasta KOAH ve astım tanılarıyla hastanelerden taburcu edilmiştir. Kesin rakamlar bilinmemekle beraber mevcut verilere göre 2.5-3 milyon KOAH hastası olduğu tahmin edilmektedir **(82)**.

Güven ve ark. **(25)** Malatya ilinde KOAH sıklığını, 40 yaş üzeri nüfusta % 9.1, 40 yaşın üzerinde sigara içenlerde ise % 18.1 olarak saptamıştır.

40 yaş üstü nüfusta KOAH prevalansı, hastalık gelişimini etkileyen risk faktörleri ve hastalık yükünün araştırıldığı çalışmada Adana ilindeki 40 yaş üstü yetişkinlerde KOAH prevalansının %20 civarında olduğu kaydedilmiştir **(39)**.

1.1.2. KOAH'ta Morbidite ve Mortalite

WHO ve toraks derneğinin 2000 yılında yayınlamış olduğu KOAH tanı ve tedavi rehberinin verilerine göre tüm dünyada 600 milyon KOAH'lı hastadan her yıl 2.3 milyon kişi hayatını kaybetmektedir **(82)**. Avrupa ülkelerinde KOAH, astım ve pnömoniden oluşan hastalık grubu ölüm nedenleri içinde 3. sırayı alırken, ABD'de KOAH tek başına 4. ölüm nedeni olarak izlenmektedir **(3, 73)**. Bugün tüm dünyada en sık rastlanılan ölüm nedenleri içinde 6. sırada yer alan KOAH'ın, 2020 yılında 3. ölüm nedeni haline gelmesi beklenmektedir **(50)**.

Ülkemizde kesin rakamlar tam bilinmemekle beraber, astım ile birlikte KOAH mortalite oranı Sağlık Bakanlığı verilerine göre (2000 yılına kadar) 2.3/100.000 olarak bulunmuştur. Yine 2000 yılı içinde yataklı tedavi kurumlarına yatırılan hastaların 127.000'inde kronik bronşit, amfizem ve astım tanısı konulmuş ve bu hastalıklar, seçilmiş 150 hastalıktan ölüm nedenleri arasında 11. sırada yer almıştır **(82)**.

1.1.3. KOAH'ta Etyopatogenez

KOAH, akciğer elastikiyetinin bozulması, fibrozis ve hava yollarının daralması gibi lezyonlarla seyreden bir hastalıktır. İnflamasyon, ödem ve sekresyonlar hava akımındaki kısıtlılığa katkıda bulunur. Aktive olmuş inflamatuvar hücrelerden, akciğer yapılarında hasara yol açabilen ve / veya nötrofilik inflamasyonun sürmesini sağlayabilen lökotrien B4 (LTB4), interlökin 8 (IL-8), tümör nekroz faktörü- α (TNF- α) ve benzeri bir dizi mediyatör salınır. İnflamasyona ek olarak, akciğerdeki proteinaz dengesi bozukluğu ve oksidatif stresin de patogenezde önemli rol oynadığı düşünülmektedir **(29, 43, 75)**.

Sigara dumanının yanı sıra çevresel hava kirliliğinin de KOAH gibi respiratuar hastalıkların gelişiminde tetikleyici faktör olduğu anlaşılmıştır. KOAH'a özgü patolojik değişiklikler merkezi ve periferik hava yollarında, akciğer parankimi ile damarlarında görülür. Kronik bronşit hava yollarındaki inflamasyonla ilişkili olup muköz bezlerin büyüklüğüyle orantılıdır. İnflamasyonda başlıca mononükleer hücrelerin infiltrasyonunun söz konusu olduğu, infiltrasyon çapı 2 mm'den daha büyük hava yollarının mukozal yüzeylerinde ve çapı 4 mm'den daha büyük hava yollarının bez kanalları ile bezlerinin çevresinde; daha küçük hava yollarının ise submukozasında görülür **(49, 72)**.

Sigara içme KOAH gelişiminde başlıca bir risk faktörü olmasına rağmen sigara içicilerinin sadece %15-20'sinde belirgin kronik hava yolu kısıtlılığı görülür. Yapılan çalışmalar, sigara içen ve kronik hava yolu kısıtlılığı görülen bireylerde, normal akciğer fonksiyonuna sahip asemptomatik sigara içicilerine göre, periferik hava yollarında düz kas alanlarının arttığını ve özellikle CD8+ T-lenfositlerin çoğaldığını göstermiştir **(70)**.

Sigara dumanına maruziyet, epitelyal ve dentritik hücreler tarafından salınan kemokinler ve sitokinlerle, makrofajlar ve nötrofiller gibi inflamatuar hücreleri uyarır. Elastaz ve matriks metalloproteinazlar (MMP 9 ve 12) gibi proteolitik enzimler, elastin peptitlerin salınımına yol açar. Bunlar dentritik hücreler tarafından fagosite edilir ve daha sonra antijen T-hücre aktivasyonuna bu da doku yıkımına neden olan proteolitik enzimlerin aşırı üretimine ve amfizem gelişimine katkıda bulunur **(79)**.

Histolojik çalışmalar ilerlemiş amfizem ve küçük hava yollarındaki bozuklukların pulmoner vaskülaritedeki değişikliklerle yakından ilişkili olduğunu göstermiştir. Pulmoner dolaşımdaki yapısal ve fonksiyonel anormallikler KOAH patogeneziindeki temel özelliklerden biridir. Endotel kaynaklı NO'nun salınımındaki bozulma pulmoner endotelyum

disfonksiyonuyla ilişkilidir. Bu durum, KOAH'ta görülen vasküler değişikliklerde kritik bir rol oynar **(58, 87)**.

1.1.4. KOAH'ta Sınıflandırma

Öksürük, balgam çıkarma veya dispne semptomları olan ve/veya hastalıkla ilgili risk faktörlerine maruz kalma öyküsü bulunan bir hastada KOAH vardır ve tanı spirometri ile doğrulanır. Postbronkodilatör Zorlu Ekspiratuvar Volüm Birinci Saniye/Zorlu Vital Kapasite (FEV1 / FVC) oranının 70' in altında olması tam geri dönüşlü olmayan hava akımı kısıtlanmasını gösterir. Kronik öksürük ve balgam çıkarma genellikle hava akımı kısıtlanması gelişmeden yıllar önce başlasa da tüm vakalarda KOAH gelişmeyebilir. Semptom varlığı ve hava akımı kısıtlaması arasındaki ilişki yeterince iyi değildir **(60)**.

Hastalığın şiddeti spirometrik olarak belirlenir. FEV1 düzeyine göre belirlenen dört evreden oluşan bir sınıflama önerilmektedir. (Tablo 1) FEV1 değerleri postbronkodilatör FEV1 değerlerini belirtmektedir. Sınıflama tedaviye yaklaşımda genel bir yol gösterici olduğu gibi sağlık durumu, alevlenme gelişimi, mortalite ve sağlık kaynaklarının kullanımı hakkında bilgi verir **(3, 60)**.

Hastalığın şiddetini değerlendirmek için nefes darlığı, hava akımının sınırlanması ve gaz alışverişindeki anormallikler gibi faktörlerin birlikte değerlendirilmesi ideal olsa da bu faktörler arasındaki ilişkiyi niceliksel olarak tanımlayan hiçbir veri yoktur. Bu hastalarda morbidite ve mortalite ile en yakından bağlantılı parametre FEV1 olduğu için, hastalığın şiddeti hava yolu obstrüksiyonunun derecesine göre değerlendirilir **(82)**.

Tablo 1. KOAH'da Sınıflandırma (64)

EVRE	ÖZELLİKLER
0: Risk altında	<ul style="list-style-type: none"> • Normal spirometri • Kronik semptomlar (öksürük, balgam çıkarma)
1: Hafif KOAH	<ul style="list-style-type: none"> • $FEV1/FVC < \%70$ • $FEV1 \geq \%80$, beklenenin • Kronik semptomlar (öksürük, balgam çıkarma) var ya da yok
2: Orta şiddette KOAH	<ul style="list-style-type: none"> • $FEV1/FVC < \%70$ • $\%50 \leq FEV1 < \%80$, beklenenin • Kronik semptomlar (öksürük, balgam çıkarma) var ya da yok
3: Ağır KOAH	<ul style="list-style-type: none"> • $FEV1/FVC < \%70$ • $\%30 \leq FEV1 < \%50$, beklenenin • Kronik semptomlar (öksürük, balgam çıkarma) var ya da yok
4: Çok ağır KOAH	<ul style="list-style-type: none"> • $FEV1/FVC < \%70$ • $FEV1 < \%30$, beklenenin ya da $FEV1 < \%50$, beklenenin + kronik solunum yetmezliği

1.1.5. KOAH'ta Risk Faktörleri

Ülkemizde kırsal kesimde yaşayan kadınların çoğu, ev içi enerji ihtiyacı için tandır dumanına maruz kalır. Endüstrileşmiş ülkelerde, amfizem ve kronik bronşit için en önemli risk faktörü sigara içimi olsa da KOAH'ın sigara içmeyen kişiler arasında da yaygın olarak bulunduğu izlenmektedir. Günümüzde 3 risk faktörünün KOAH gelişimindeki rolü çok iyi bilinmektedir. Bunlar, aktif sigara içimi, mesleki toz ve dumanlarla karşılaşma ve kalıtsal alfa-1 antitripsin (AAT) eksikliğidir. Bunlara ek olarak, hava kirliliği, pasif sigara içimi, viral enfeksiyonlar, sosyoekonomik faktörler, alkol, yaş, cinsiyet ailevi/genetik faktörler ve hava yolu aşırı cevaplılığı KOAH gelişiminde risk faktörüdür (54, 82).

Tablo 2. KOAH' da Risk Faktörleri (82)

Çevre Faktörleri	Konakçı ile ilgili faktörler
Sigara İçimi Aktif sigara içimi Pasif sigara içimi Annenin sigara içimi	Genetik faktörler
	Cinsiyet
	Yaş
	AAT eksikliği
Mesleki Karşılaşmalar	Aile öyküsü
	Etnik faktörler
Hava Kirliliği Dış Ortam İç Ortam	Hava yolu hiperreaktivitesi
	Atopi
	Düşük doğum ağırlığı
Sosyoekonomik Faktörler / Yoksulluk	Aşırı mukus yapımı
Diyet ile ilgili faktörler Yüksek tuzlu diyet Diyette antioksidan vitaminlerin azlığı Diyette doymamış yağ asitlerinin azlığı	
Perinatal olaylar ve çocukluk hastalıkları	
Tekrarlayan bronkopulmoner enfeksiyonlar	

1.1.5.1. Sigara

Tüm dünyada kronik morbidite ve mortalitenin önde gelen sebeplerinden biri olan KOAH oluşumunda gelişmiş ülkelerde sigara içimi başlıca sebep olsa da, gelişmekte olan ülkelerde sigara içmeyen kişiler arasında da yaygın olarak bulunması çevresel faktörlerin KOAH gelişiminde büyük bir rol oynadığını düşündürmektedir. Sigaranın etkileri, sigara içiminin yoğunluğu ve süresi ile yakından ilişkili olup, sigara içicilerin % 50'sinde kronik bronşit gelişmektedir. Kronik bronşit, sigara içenlerde içmeyenlere göre 15-20 kat fazla görülür. Çünkü sigara içen duyarlı kişilerde solunum fonksiyonlarındaki gerileme hızı oldukça belirgindir. Dünya genelinde, özellikle kadınlarda ve yetişkinlerde sigara içiminin yaygınlaşmasına paralel olarak, KOAH prevalansı ve mortalitesi de giderek artmaktadır. Sigaranın bırakılması, hastalığın önlenmesinde ve tedavisinde en önemli unsurdur **(1, 17, 40)**.

Pasif sigara içiciliği, diğer insanların sigara içmesine bağlı olarak, sigara dumanındaki, karsinojenik, teratojenik, iritan ve toksik maddelere maruziyete neden olur. Yapılan çalışmalar, pasif sigara içiciliğinin KOAH, akciğer kanseri ve kardivasküler hastalıklar gibi birçok hastalığın ortaya çıkmasına yol açtığını ve bazı hastalıkların da seyrini ağırlaştırdığını göstermiştir **(31)**.

1.1.5.2. Mesleki Maruziyet

KOAH'ta mesleki maruziyete bağlı risk yaklaşık %19 olarak hesaplanmıştır ve bu risk sigara içmeyenlerde %31 civarındadır. Kırsal alanlarda yaşayanlar önemli oranda organik partiküllere (bitki tozları, bakteriyel ve fungal toksinler), tekstil endüstrisinde çalışanlar bitkisel tozlara (örneğin pamuk tozu) maruz kalırlar. Bunun dışında demir-çelik

fabrikalarında, ahşap sanayisinde ve inşaat sektöründe de mesleki maruziyetler söz konusu olmaktadır **(61)**.

1.1.5.3. Alfa – 1 Antitripsin Eksikliği

Pek çok fonksiyonu bulunan bir akut faz reaktanı olan AAT'nin, antiproteaz aktivitesi fizyolojik açıdan önemlidir. Birtakım genetik mutasyonlarla meydana gelen sistemik eksikliği, akciğerde amfizem ve kronik bronşit gelişimine neden olur **(83)**.

1.1.5.4. Hava Kirliliği

Hava kirliliğinin KOAH gelişimindeki etkisi tartışmalıdır. Kentlerdeki yüksek düzeydeki kirliliğin kalp ve akciğer hastalığı bulunan kişilerde zararlı etkilere sahip olduğu bilinmektedir. Dış ortam kirliliğinin KOAH alevlenmelerini, hastaneye başvuruları ve mortaliteyi artırdığı gösterilmiştir. Dış ortam kirleticilerinin, okside edici etkilerinden ötürü KOAH gelişiminde rolü olsa da, sigara dumanı daha etkilidir. Çoğu gelişmiş ülkede dış ortam hava kirlilik düzeyleri önemli oranda azalmış ve bir risk faktörü olma özelliğini önemli ölçüde kaybetmiştir. Buna karşılık hava kirliliğinin hala önemli bir problem olduğu gelişmekte olan ülkelerde, yeterli havalandırma koşullarının bulunmadığı ortamlarda, ısıtma ve yemek pişirme amacıyla değişik katı yakıtların kullanılmasının yüksek düzeyde iç ortam kirliliğine neden olabileceği ve bu durumun da KOAH gelişimi ile ilişkili olabileceği bildirilmiştir **(39)**.

1.1.5.5. Düşük Doğum Ağırlığı

Akciğer ve hava yollarının intrauterin büyümesini etkileyen, düşük doğum ağırlığına ve immün cevabın gelişiminin bozulmasına yol açan fetal ve neonatal faktörler, KOAH gelişimine katkıda bulunabilir **(28)**.

1.1.5.6. Cinsiyet, Irk ve Yaş

KOAH, erkekler arasında, kadınlara göre oldukça yüksek oranda görülse de, kadınlar arasında sigara içiciliğinin artmasıyla aradaki fark giderek kapanmaktadır. KOAH'a bağlı ölümler, beyaz ırkta, siyah ırklara göre önemli ölçüde daha yüksek oranda görülmektedir. KOAH genellikle 50 yaş üstünde ve 20 yıldan daha uzun süre sigara içmiş kişilerde görülmektedir. Avrupa ülkelerinde KOAH prevalansının 40 yaş üstü yetişkinlerde % 4-6 olduğu tahmin edilmektedir. Fakat son yıllarda Güney Amerika'nın değişik ülkelerinde yapılan çalışmalarda Çin ve Türkiye'de daha önce sanılanın aksine 40 yaş üstü yetişkinlerde KOAH prevalansının % 10'ların üstünde olduğunu göstermektedir **(39, 46, 49, 74, 85)**.

1.1.5.7. Sosyoekonomik Durum

Sosyoekonomik koşulların düşük olması akciğer fonksiyonlarını olumsuz etkilemekte, hastalığın morbidite ve mortalitesi artmaktadır **(39, 40)**.

1.2. Serbest Radikaller

Organizmanın prooksidan-antioksidan dengesinin korunması sağlıklı bir yaşam sürdürülebilmesi için çok önemli ve gereklidir. Oksijenle sürekli temas halinde olmak, serbest radikal oluşumunu da beraberinde getirir. Dış orbitalinde paylaşılmamış bir elektron taşıyan serbest radikallerin ömürleri çok kısa olup, kararsız bir yapı göstermektedir. Serbest radikaller organizmada metabolik olaylar sırasında oluştukları gibi, radyasyon, ilaçlar ve zararlı kimyasal maddeler gibi çeşitli dış etkenler nedeniyle de oluşur. Çok önemli bir bölümü oksijen ve azot kaynaklı olan bu radikallerin organizmada karbon ve kükürt merkezli olanları da vardır. Serbest radikaller organizmada mikrozomal karma fonksiyonlu oksidaz sistemi, sitoplazmik ksantinoksidaz, hücre membranına bağlı NADPH oksidaz ve lipooksijenazlar gibi enzimlerin katalize ettiği reaksiyonlar sırasında oluşur **(2)**.

Oksidan-antioksidan dengesinin oksidanlar lehine bozulmasına oksidatif stres denir. Yapılan bilimsel çalışmalar, oksidatif stresin birçok hastalıkta merkezi bir rol oynadığını göstermiştir. KOAH patogenezinde de özellikle inflamatuvar hücrelerden salınan ROT'un oluşturduğu oksidatif stresin önemli olduğu düşünülmektedir **(21, 66)**.

Süperoksit radikali, moleküler oksijenin tek elektron ile indirgenmesi sonucu meydana gelir. Bu durum biyolojik sistemlerde yaygın olarak gerçekleştiğinden, canlılar için önemlidir. Canlılarda çok sayıda enzimatik ve enzimatik olmayan tepkimelerle süperoksit üretilir **(37, 80)**.

Hidrojen peroksit (H_2O_2), oksijenin enzimatik olarak iki elektronla indirgenmesi veya peroksitlerin dismutasyonu sonucu oluşur. pK'sı10.6 olduğundan, nötral ve asidik koşullarda net yük taşımayan H_2O_2 , biyolojik zarları kolayca geçebilir. Yapısında paylaşılmamış elektron içermediğinden

radikal özelliği taşımasa da, Cu, Fe gibi metal iyonlarının varlığında, hidroksil radikalinin öncülü olarak davranmaktadır **(37, 89)**.

Hidroksil radikali, biyolojik ve kimyasal sistemlerde iki mekanizma ile oluşabilir. Birincisi, iyonlaştırıcı radyasyonun etkisiyle sulu ortamda su moleküllerinin iyonlaşmasıyla gerçekleşir. Bu tepkimeler çok kısa bir süre içinde gerçekleşir ve bunun sonucunda üretilen $\cdot\text{OH}$, radyasyonun canlılardaki zararından sorumlu başlıca kimyasal bileşiktir. Hidrojen peroksidin eksik indirgenmesiyle olan ikinci reaksiyon hidroksil radikalinin en önemli kaynağıdır. Hidroksil radikali; yağ asitleri, nükleik asitler, karbonhidratlar ve proteinler gibi çeşitli moleküllerden bir proton çıkarıp karbon merkezli organik radikallerin oluşmasına neden olmaktadır **(14, 35, 37)**.

Singlet oksijenin ($^1\text{O}_2$) ortaklanmamış elektronu bulunmadığı için radikaller arasında gösterilmese de, spin kısıtlaması olmadığı için reaktivitesi çok yüksektir. Organizmada, pigmentlerin oksijenli ortamda ışığı absorblaması sonucu, hidroperoksitlerin metal varlığındaki yıkım tepkimelerinde ya da kendiliğinden dismutasyon tepkimeleri sırasında oluşabilir. Singlet oksijen doymamış yağ asitleri ile tepkimeye girdiğinden peroksi radikalini ($\text{ROO}\cdot$) oluşturur ve OH kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilir **(2, 37)**.

Hidroperoksil (perhidroksil radikali, $\text{HO}_2\cdot$) süperoksit radikalinin düşük pH'da ($\text{pK}(\text{a}): 4.8$) protonlanmasıyla oluşur ve daha kuvvetli bir oksidandır **(16)**.

Alkoksil radikali, Fe^{+2} gibi geçiş metallerinin lipid hidroperoksidi indirgemesi ile oluşmaktadır. Buna bağlı olarak okside düşük dansiteli

lipoproteininin (LDL) meydana gelmesi nedeni ile devam eden süreçte hücre ölümü gerçekleşmektedir **(14)**.

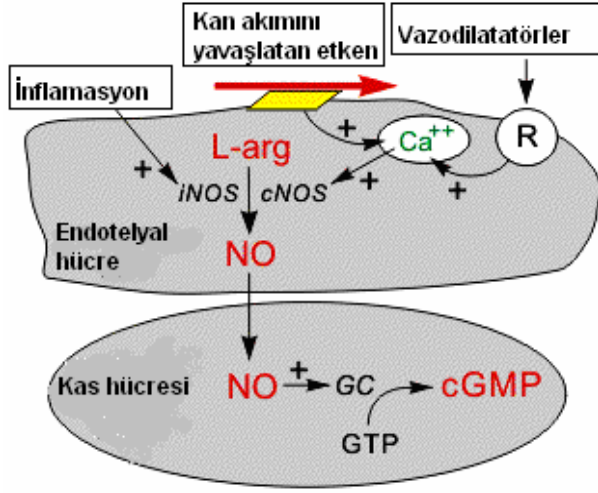
1.3. Nitrik Oksit

Başlangıçta nitrik oksitin (NO) basit bir atmosfer atığı olduğu düşünülmekteyken, 1987 yılında damar endotelinden, *endotel kaynaklı gevşeme faktörü* (EDRF) olarak bilinen maddenin izole edilmesi sırasında nitrik oksit sentetaz (NOS) tespit edilmiş ve sonraki yıllarda EDRF'nin NO olduğu anlaşılmıştır **(30)**.

1987 yılına kadar organizmada bulunuş sebebi ve üstlendiği rol hakkında çok az şey bilinen NO'nun, fizyolojik ve patolojik olaylarda merkezi bir rol oynayan önemli bir molekül olduğunu göstermiştir. NO, arjininin NOS tarafından oksitlenmesiyle ya konstitutif ve kalsiyuma bağımlı olarak ya da indüklenebilir ve kalsiyumdan bağımsız olarak sentez edilir. Endojen olarak üretilen NO, immun sistemi regüle etmesinin yanı sıra, vasküler tonusun ve nöronal iletinin düzenlenmesi de dahil olmak üzere pek çok fizyolojik olayda önemli bir rol oynar. NO; suda ve yağda çözünebilen, solüsyon içinde yarılanma ömrü 30 saniye olan ve kolaylıkla nitrit (NO_2^-) ve nitrata (NO_3^-) okside olabilen renksiz ve stabil bir gazdır. Düşük konsantrasyondaki NO, O_2 'e nazaran hemoglobine 3000 kat daha fazla affinite ile bağlanır. Hemoglobin oksijen formunda iken, NO'yu kısa sürede nitrata (NO_3^-) oksitler. Özellikle dolaşımdaki oksihemoglobin NO için kuvvetli bir inhibitördür **(42,84)**.

NO, oksijen yokluğunda oldukça stabildir. Fakat hava ile temas durumunda hızla oksijenle reaksiyona girerek nitrojen dioksitine (NO_2) dönüşür. NO_2 doku hasarı yapabilecek toksik bir gazdır. Pnömoni, pulmoner ödem ve amfizeme neden olabilir. NO, sinir sisteminde fizyolojik ve patolojik rolleri olan ve nöral morfogenezde ve sinapsların şekillenmesinde rol oynayan; nörotransmitter salınımını ve gen ekspresyonunu düzenleyen benzersiz bir biyolojik moleküldür. Aşırı üretilmesi halinde ise, bir nörotoksin olarak karşımıza çıkmaktadır. NO'nun diğer bir patofizyolojik işlevi de,

oksidan/antioksidan denge üzerindeki etkileridir. Yapılan çalışmalar NO'nun hem pro-oksidan hem de anti-oksidan mekanizmalarda rol oynayabileceğini göstermiştir. Antioksidan özelliklerini, diğer serbest radikallerle etkileşerek gösterir (22, 26, 76).



Şekil 1. Nitrik Oksitin Sentezi

Yüksek oranda diffüze olabilen intrasellüler bir sinyal molekülü olan NO, NOS enziminin katalizi ile sentezlenir. Farklı kromozomlar üzerinde lokalize, farklı genler tarafından kodlanan 3 farklı NOS izoformu belirlenmiştir. Bunların ikisi (endotelial NOS ve nöronal NOS) yapısal olarak ekspres edilir (cNOS); üçüncüsü ise indüklenebilir enzim formundadır (iNOS). cNOS izoenzimi, özellikle damar endoteli, idrar yolu dokuları, periferik ve santral sinir sistemi gibi dokularda lokalizedir. Bu dokularda inaktif halde bulunan NOS, hücre içi iyonize kalsiyum konsantrasyonunun artması ve kalsiyum iyonlarının kalmoduline bağlanmasıyla aktifleşir ve L-argininden NO sentezlenir. Ancak sentez süresinin kısalığı, sentezlenen NO miktarının oldukça düşük olmasına sebep olur. Çünkü hücre içi iyonize kalsiyum

konsantrasyonu azalmaya başladığı anda, enzim tekrar inaktif forma geçer ve NO sentezi durur (**8, 15, 53, 84**).

iNOS, özellikle monosit-makrofaj, nötrofil, hepatosit ve damar endotel hücrelerinin birtakım sitokinlerle aktivasyonu sonucu, NOS'un indüksiyonu ve NO sentezi gerçekleşir. Özellikle bakteri lipopolisakkaritleri ve IFN- γ veya yüksek konsantrasyonda lipopolisakkaritle uyarılan makrofajlar çok miktarda NO üreterek, yabancı hücrelerde (bakteri, parazit, tümör hücresi gibi) hücre öldürücü etkiler ortaya çıkarır. İndüksiyon sonrası NO sentezi, uzun süre (saatlerce hatta günlerce) devam edebilir. Bununla birlikte, uzun süreli ve aşırı miktarda NO sentezlenmesi, makrofaj ve diğer dokularda da harabiyete yol açabilir. iNOS indüksiyonu L-arjinin analogları ve glukokortikoidlerce inhibe edilebilmektedir. iNOS eksikliğinin immun cevabı etkilediği ve bazı enfeksiyonların görülme riskini artırdığı tespit edilmiştir. NO, düz kasların gevşemesini sağlayarak kan basıncını, kan akım hızını ve dolayısıyla kalp kasılmasını regüle eder; trombositlerin adezyon ve agregasyonlarını baskılar; endotel hücresi ve vasküler düz kas hücrelerinde ise antiproliferatif etki gösterir (**8, 15, 53, 59**).

Birçok hormon ve ilaç hücre içi etkilerini hücre yüzeyindeki spesifik reseptörlerine bağlanarak ve hücre içi cAMP konsantrasyonunu artırarak gösterirken, NO hücre membranını geçerek demir ve/veya sülfür içeren proteinlere bağlanır ve bir dizi biyokimyasal mekanizmayı tetikler. NO etkisiyle hücre içi guanilat siklaz aktive olur ve Guanozin trifosfat (GTP)'dan ikincil haberci olan siklik guanozin monofosfat (cGMP) oluşur. cGMP ise, kas gevşemesi, sinapstan uyarı geçişi gibi hücre içi süreçleri düzenler. Böylece NO, guanilat siklaz aktivitesini etkileyerek damar dilatasyonu, sinirlerden uyarı geçişi gibi fonksiyonları gerçekleştirir. Ayrıca, merkezi sinir sisteminde hafıza oluşumu, denge, uyarı geçişi, koku alma gibi birçok fonksiyonları destekler. Periferik sinir sisteminde ise nonadrenerjik ve nonkolinerjik sinirleri etkileyerek vazodilatasyon, solunum, genitoüriner ve gastrointestinal

fonksiyonların düzenlenmesine katkıda bulunur. Dolaşım sisteminde trombosit agregasyonunun ve adezyonunun engellenmesi, kalp kasının düzenlenmesi gibi olaylara da iştirak eder. Pulmoner sistemde, inhale NO, pulmoner hipertansiyonu normale çevirebilir ve akciğer fonksiyonları bozulmuş hastalarda, solunum fonksiyonları normalize edebilir **(84)**.

1.4. Lipit Peroksidasyonu

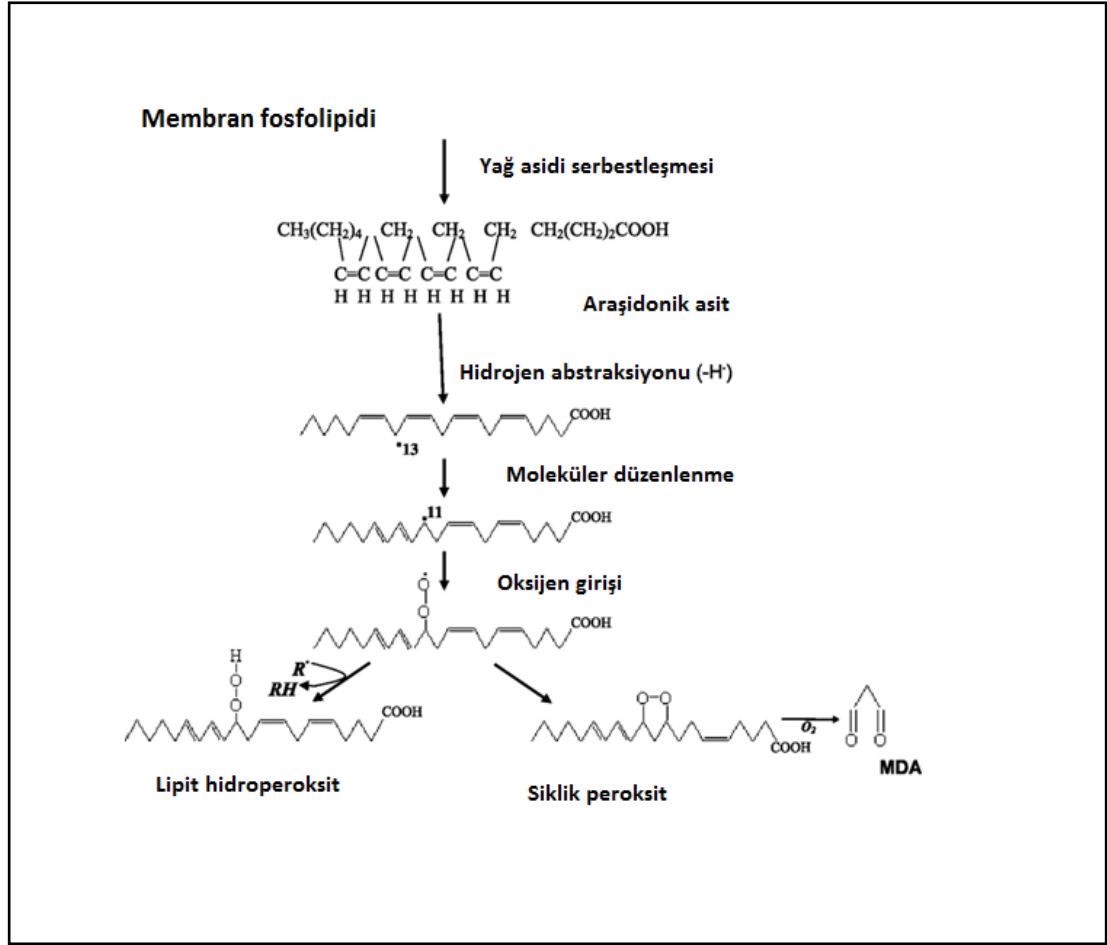
Oksidatif stres; vücutta proteinler, nükleik asitler ve lipitler başta olmak üzere birçok molekülü etkilemektedir. Oksijen radikalleri amino asit yan zincirlerinin yapısını bozarak protein agregatlarının oluşumuna yol açar ve peptid bağlarını koparabilir (33, 66), ayrıca DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve hücre ölümüne kadar varan süreci tetikleyebilir. Sitotoksisite, büyük oranda nükleik asit-baz modifikasyonlarından doğan kromozom değişikliklerine veya DNA'daki diğer bozukluklara bağlıdır. Yapılan bilimsel çalışmalar, serbest radikallerin yol açtığı DNA hasarının KOAH'ın patogenezinin sorumluluğundan biri olduğunu göstermiştir (52, 56).

Vücutta yapısal ve işlevsel pek çok fonksiyon üstlenen lipitler, oksidatif stresin en önemli hedeflerinden biridir. Serbest radikaller yan zincir metilen karbonundan bir hidrojen atomu ayırarak lipid peroksidasyon reaksiyonlarını tetiklerler. Oluşan karbon merkezli lipid radikali aerobik hücrelerde oksijenle reaksiyona girerek peroksil radikalini oluşturur. Peroksil radikalleri çoklu doymamış yağ asitlerini lipid hidroperoksitlere dönüştüren bir zincir reaksiyonuna neden olur. Lipit peroksidasyonu (LPO) membran fonksiyonlarını bozabilir, membrana bağlı reseptör ve enzimleri inaktive edebilir, membran akışkanlığına zarar verebilir ve membran geçirgenliğini artırabilir. Lipit hidroperoksitler antioksidanlarla (α -Tokoferol gibi) veya demir içeren proteinlerle (hemoglobilin gibi) etkileşebilir; sonuçta hidrokarbon gazlar (etan, pentan) ve doymamış aldehitler (MDA) oluşturur.

MDA, doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucunda oluşan başlıca bir sekonder ürün olup, bu ürünün uzun ömürlü ve yüksek reaktiviteye sahip olması sebebiyle dokulardaki düzeyleri 1960'lı yıllardan günümüze kadar peroksidasyonun şiddetini belirlemek için kullanılmaktadır. MDA gibi reaktif aldehitler oluştukları bölgeden uzağa diffüze olabildikleri için uzak bölgelerde de doku hasarına sebep olabilirler. MDA en çok linoleik asit,

araşidonik asit, dokosahekzaenoik asit gibi ikiden fazla çift bağ içeren doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşmaktadır. Bazen eikozonoidlerin enzimatik metabolizması sırasında da ortaya çıkabilmektedir. Değişik izoformlarda bulunması pH değişikliklerine bağlıdır. Fizyolojik pH'da serbest enolat formunda bulunan MDA, amino gruplarına karşı düşük reaktivite gösterirken düşük pH'da reaktivitesinin artmasından dolayı proteinleri de olumsuz etkilemektedir.

MDA, özellikle lizin kalıntıları olmak üzere birçok kalıntıda modifikasyonlara, molekül içi ve moleküller arası çapraz bağların oluşmasına neden olmaktadır. MDA'nın hücre membranlarının geçirgenliğini artırdığı, membranların iyon alışverişine etki ederek hücre içi iyon dengesini bozduğu, enzim aktivitelerinin bozulmasına, DNA'nın yapısında kırılmalara ve baz değişimlerine neden olduğu bildirilmektedir **(30, 66 ,67)**.



Şekil 2. Lipit Peroksidasyonu ve MDA Oluşumu (67)

1.5. Antioksidanlar

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önleyen savunma mekanizmaları olan antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ve/veya ROT'ni toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. Antioksidanlar, endojen ve eksojen kaynaklı antioksidanlar olmak üzere; endojen antioksidanlar ise enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere ikiye ayrılabilir. Enzimatik antioksidanlar, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve glutatyon redüktaz (GSH-R)'dır. Enzimatik olmayan antioksidanlar ise, Vitamin E, beta karoten, vitamin C, melatonin, redükte glutatyon (GSH), albumin, bilirubin, ürik asit ve ferritindir. Amonyum persülfat, benzoil peroksit, bütilehidroksitoluen (BHT), bütilehidroksianisol (BHA), dodesilgallat, gumbenzoin, lauril, propilgallat, nordihidroguaiaretik asit (NDGA), sodyum bisülfür, statinler, ACE inhibitörleri, B-blokörler, anjiyotensin I reseptör blokörleri, selenyum ve folik asit ise eksojen antioksidanlar arasında sıralanabilir **(2, 23)**.

Süperoksit dismutaz, çeşitli prostetik gruplar taşıyan metalloenzimlerin bir grubu olup, CuZn-SOD sitoplazmada, Mn- SOD ise, mitokondrilerde yer alır. SOD, ROS'lardan süperoksit bir elektron vererek H₂O₂'ye indirger. SOD'un antioksidan etkisi süperoksit ile Fe⁺³ 'ün, Fe⁺²'ye indirgenmesi sonucunda hidroksil radikalının oluşmasının engellenmesi şeklindedir **(14, 47)**. CAT, antioksidan savunmanın ikinci önemli basamağını oluşturur ve hidrojen peroksiti oksijen ve suya dönüştürür **(2)**. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px), H₂O₂ ve organik hidroperoksitlerin (ROOH) indirgenmesini katalizler ve aktivasyonu için selenyuma ihtiyaç duyar. Katalizlediği reaksiyonda peroksitler indirgenirken redükte glutatyon (GSH) okside (GSSG) olmaktadır. GSH-Px, diğer antioksidanlarla birlikte solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmelerini önler. Eritrositlerde oksidan strese karşı en etkili

antioksidandır **(2, 4, 14)**. GSH redüktaz enzimi, pentoz fosfat yolunda üretilen NADPH'ın varlığında, ROT tarafından okside edilen glutatyonun redükte forma dönüşmesini sağlar. Eritrosit, karaciğer ve böbrekte bol bulunan enzim, prostetik grup olarak 2 adet flavin adenin dinükleotit (FAD) içerir **(34, 81)**.

E vitamini hücre membranlarını serbest radikal aracılı peroksidatif hasardan korur ve doğanın en etkin zincir kırıcı antioksidanı olarak kabul edilmektedir. Fenolik çekirdeği, membran yüzeyinde antioksidan olarak etki ederken, yan zincirindeki metil grupları, membran yağ asitlerinin çifte bağlarınca oluşturulmuş ceplere girerek membranı stabilize etmektedir. Karotenoidler (β -Karoten, Likopen, Zeaksantin, Lutein) genelde turuncu, sarı bileşikler olup, genellikle bitkilerde bulunan pigmentlerdir. A vitamininin metabolik ön maddesi olan β -karoten singlet oksijeni baskılama, süperoksit radikalini temizleme gibi koruyucu etkilere sahiptir. Askorbik asit iyi bir redükleyicidir. Hücrelerin sitozolik ve membran komponentlerini oksidatif hasardan korur. Askorbik asit aynı zamanda, prolinhidroksilaz, lizinhidroksilaz, 4-hidroksifenilpirüvatdioksijenaz, dopamin β -hidroksilaz ve triptofanhidroksilaz gibi oksidasyon enzimlerinin de koenzimidir. Melatonin, başlıca pineal bezden sentezlenen ve organizmada çok değişik fonksiyonlar üstlenen bir hormondur. Temel fonksiyonu, sirkadiyen ritmin düzenlenmesidir ve gece karanlıkta sekrete edilerek, uyku getirici bir etki gösterir. Bu etkinin yanı sıra, immun sistemin stimülasyonu, inflamasyonun baskılanması, serbest radikallerin temizlenmesi ve antioksidan enzimlerin uyarılması gibi etkiler de göstermektedir **(2, 64, 65)**.

Glutatyon; glutamik asit, sistein ve glisinden oluşan, intrasellüler konsantrasyonu daha fazla olan bir tripeptittir. Önemli bir indirgeyici ajan ve antioksidan olan GSH, hücrenin oksido-redüksiyon dengesinin sürdürülmesinde ve hücrelerin endojen ve ekzojen kaynaklı oksidanların zararlı etkilerinden korunmasında görev almaktadır **(18, 41)**. Albümin,

organizmada birçok işlevine ek olarak bakır iyonunu bağlama özelliğine de sahiptir ve böylece bakır iyonuna bağlı lipid peroksidasyonunu ve hidroksil radikali oluşumunu önlemektedir **(13)**. Ürik asit, hidroksil radikali ile hipoklorik asit gibi güçlü oksidanları inaktive edebilme yeteneğine sahiptir **(7)**. Bilirubin, indirgeyici özelliğinden dolayı, ekstrasellüler sıvıda bir antioksidan olarak işlev görebilir. Bununla birlikte, bakır iyonlarının varlığında, ROT'nin oluşumuyla (özellikle hidroksil radikali), DNA hasarına yol açabileceğinden dolayı, aynı zamanda prooksidan özelliklere de sahiptir **(5, 78)**.

2. MATERYAL VE METOT

Çalışmada materyal olarak Kars Devlet Hastanesi Göğüs Hastalıkları servisinde yatan ve daha önceden KOAH teşhisi konulmuş 20 kadın ve 20 erkek hastanın, kontrol grubu olarak ise sigara kullanmayan, herhangi bir kronik ve/veya solunum yolu hastalığı olmayan 9 kadın ve 11 erkek toplam 20 gönüllü bireyin kan örnekleri kullanılmıştır. Hasta grubu olarak seçilen kadınlardan hiçbirinde sigara içme hikayesi yoktu.

2.1 Kan Örneklerinin Toplanması ve İşlenmesi

Hastalar oturur pozisyonda iken iki ayrı antikoagulanlı tüpe venöz kan örnekleri alındı ve soğutmalı santrifüjde 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serumlar ayrıldı ve ependorf tüplere aktarılıp, – 40 °C'de çalışma gününe kadar muhafaza edildi. MDA ve NO düzeylerinin ölçümü Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında yapıldı.

2.2 Plazmada MDA Tayini

Plazmada MDA tayini Yoshioka ve ark.'nın **(88)** bildirdiği yöntemle göre ölçüldü.

2.2.1 Deneyin Prensibi

Tiyobarbütirik asit (TBA) tepkimesinde lipit içerik, düşük pH ve TBA varlığında ısıtıldığında 535 nm'de maksimum pik oluşturan stabil kırmızı-pembe renk meydana gelir. Kırmızı-pembe renk, MDA molekülü ile iki TBA molekülünün birleşmesi sonucu oluşan kromojenden dolayıdır. MDA'nın bir kısmı peroksidasyon sırasında, büyük çoğunluğu ortam asitleştirildikten sonra uygulanan ısıtma aşamasında LPO'nun yıkılması sonucu oluşur.

2.2.2 Deneyde Kullanılan Çözeltiler

Triklorasetik asit (% 20): 20 g triklorasetik asit (TCAA) distile suda çözüldü ve hacim 100 ml'ye tamamlandı.

Tiyobarbütirik asit (% 0,67): 1,675 g tiyobarbütirik asit (TBA) distile suda çözüldü ve hacim 250 ml'ye tamamlandı.

Stok Standart Çözelti (20 mmol/L): 0,494 ml 1,1,3,3-tetraetoksipropan (d: 0,92; % 97; MA: 220,3) 100 ml alkolde çözümlenerek, 20 mmol/l'lik stok standart çözelti hazırlandı.

Kalibrasyon Eğrisinin Hazırlanması: 20 mmol/L'lık Stok Standart Çözeltiden 0,1 ml alınarak hacmi 100 ml'ye tamamlandı ve 20 μ mol/L'lik standart çözelti elde edildi. Bu çözelti ile 20-10-5-2,5-1,25-0,625-0,3125 μ mol/l'lik dilüsyonlar hazırlanarak aşağıda açıklandığı şekilde çalışıldı. 535 nm'de köre karşı optik dansiteleri okundu ve kalibrasyon eğrisi çizildi.

2.2.3 Deneyin Yapılışı

Test ve kör olarak işaretlenen cam deney tüpleri alındı ve test tüpüne 0.5 ml plazma, kör tüpüne 0.5 ml distile su pipetlendi. Bütün tüplere 2,5 ml % 20 'lik TCAA ve 1 ml TBA ilave edildi. Tüpler 90 °C'lik su banyosunda 30 dakika inkübe edildi, soğutuldu ve üzerine 4 ml n-bütanol pipetlenerek 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Daha sonra n-bütanol tabakası başka bir tüpe aktarılarak 535 nm'de köre karşı testin absorbansı spektrofotometrede okundu.

Tablo 3. MDA Ölçüm Yöntemi

	Kör	Test
Plazma	-	0.5 ml
Distile su	0.5 ml	
TCAA	2.5 ml	2.5 ml
TBA	1 ml	1 ml

90 °C'de 30 dakika inkübe edildikten sonra tüpler su altında soğutuldu.

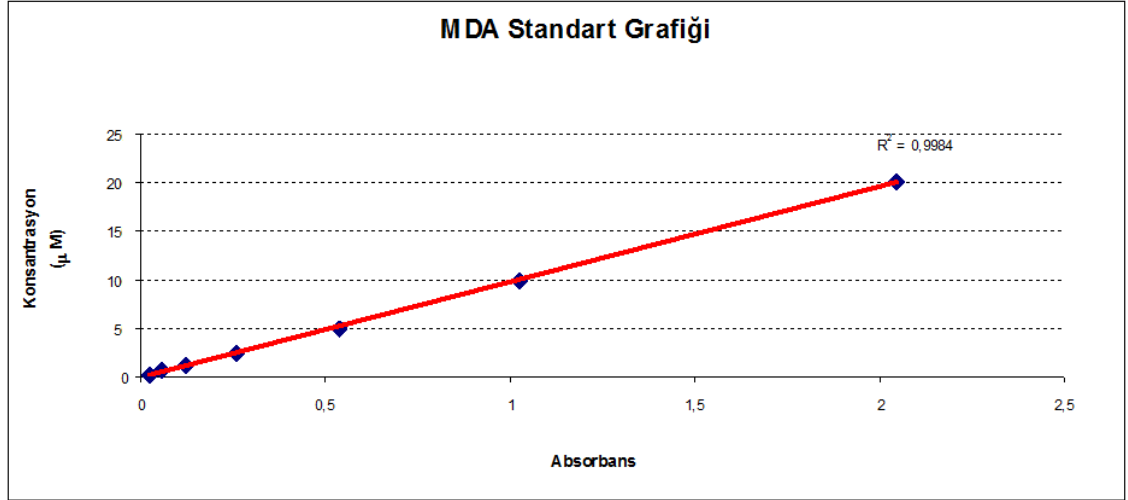
n-Bütanol	4 ml	4 ml
------------------	------	------

3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.

Oluşan tabaka ayrılarak 535 nm'de köre karşı optik dansiteler okundu.

2.2.4 Sonuçların Hesaplanması

Sonuçlar kalibrasyon eđrisinden bakılarak bulundu.



Grafik 1. MDA Düzeyinin Saptanmasında Kullanılan Kalibrasyon Eğrisi

2.3 Plazmada Nitrik Oksit Tayini

Nitrik oksit düzeyleri Miranda ve ark.'nın (48) bildirdikleri yöntemle tayin edildi.

2.3.1 Deneyin Prensibi

Nitrat, vanadyum (III) klorür ile nitrite dönüřtürülür. Nitritle sülfanilamidin asidik ortamda N-(1-Naftil) etilen diaminedihidroklorür ile

reaksiyonu sonucu kompleks diazonyum bileşigi oluşur. Oluşan bu renkli kompleks 540 nm'de ölçülür. Nitrit ve nitrat ölçümleri ayrı ayrı yapıldıktan sonra ikisinin toplamı NO düzeylerini gösterir.

2.3.2 Deneyde Kullanılan Çözeltiler

Çinko Sülfat (% 10): 10 g çinko sülfat distile suda çözülerek hacim 100 ml'ye tamamlandı.

Sodyum Hidroksit (0,3 M): 1,2 g sodyum hidroksit distile suda çözülerek hacim 100 ml'ye tamamlandı.

1 M HCl: 8,29 ml HCl (d: 1,19; %37; MA: 36,46) içinde bir miktar distile su bulunan balon jodede çözülerek hacim 100 ml'ye tamamlandı.

Vanadyum (III) Klorür (% 0,8): 800 mg vanadyum (III) klorür 1 M HCl'de çözülerek hacim 100 ml'ye tamamlandı.

Sülfanilamid (% 2): 2 g sülfanilamid % 5'lik HCl'de çözülerek hacim 100 ml'ye tamamlandı.

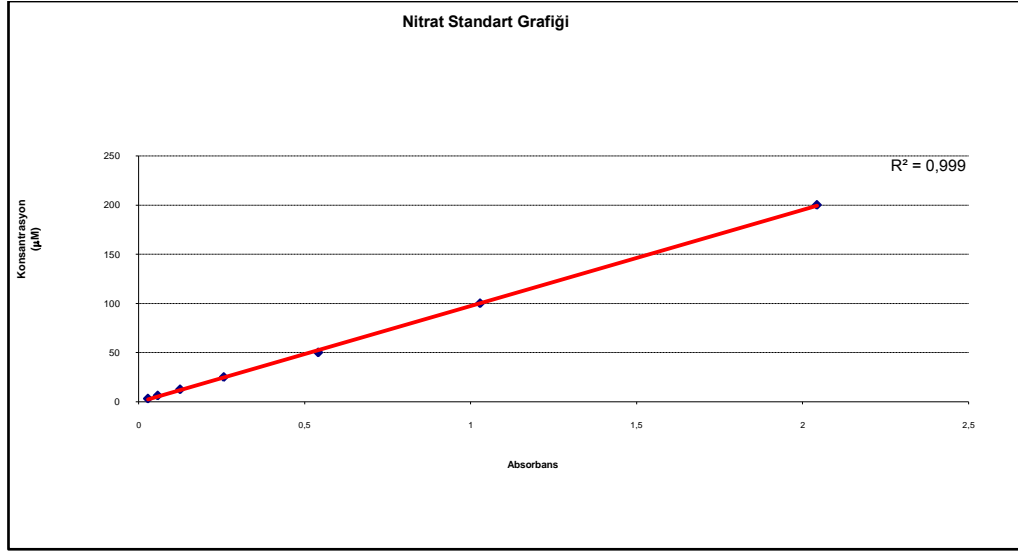
Naftil Etilen Diamin Dihidroklorür (% 0,1): 100 mg 1-Naftil etilen diaminedihidroklorür (NEDD) distile suda çözülerek hacim 100 ml'ye tamamlandı.

Griess Ayracı: 50 ml % 0,1 NEDD ve 50 ml % 2 sülfanilamid eşit miktarda karıştırıldı.

Stok Nitrit Çözeltisi (1 mM): 6,9 mg NaNO_2 distile suda çözülerek hacim 100 ml'ye tamamlandı.

Stok Nitrat Çözeltisi (1 mM): 8,5 mg NaNO_3 distile suda çözülerek hacim 100 ml'ye tamamlandı.

Kalibrasyon Eğrisinin Hazırlanması: 1 mM'lık stok nitrit ve nitrat çözeltilerinden 200 – 100 – 50 – 25 - 12,5 - 6,25 - 3,125 μM 'lık dilüsyonlar hazırlanarak nitrat ve nitrit analizlerindeki işlemler gerçekleştirildi. 540 nm'de köre karşı optik dansiteleri okundu ve kalibrasyon eğrisi çizildi.



Grafik 2. Nitrat Düzeyinin Saptanmasında Kullanılan Kalibrasyon Eğrisi

2.3.3 Numunelerin Deproteinize Edilmesi

400 µl serumun üzerine 200 µl 0,3 M NaOH ilave edilerek vortekslendi ve 5 dakika beklendikten sonra 200 µl % 10'luk ZnSO₄ eklenerek tekrar vortekslendi. Numuneler 14000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra üstteki berrak sıvı analiz için ayrıldı.

2.3.4 Nitrat Analizinin Yapılışı

Mikroplak kuyucuklarına 100 µl plazma pipetlendi. Tüm kuyucuklara 100 µl VaCl₃ ve 100 µl griess ayıracı ilave edildi. 30 dakika 37°C' de etüvde inkübe edildikten sonra 540 nm dalga boyunda absorbanlar okundu.

Tablo 4. Nitrat Ölçüm Yöntemi

	Kör	Test
Distile Su	100 µl	-
Plazma	-	100 µl
Vanadyum (III) Klorür	100 µl	100 µl
Griess Ayıracı	100 µl	100 µl

37 C'de 30 dk inkübe edildikten sonra 540 nm'de okundu.

2.3.5 Nitrit Analizinin Yapılışı

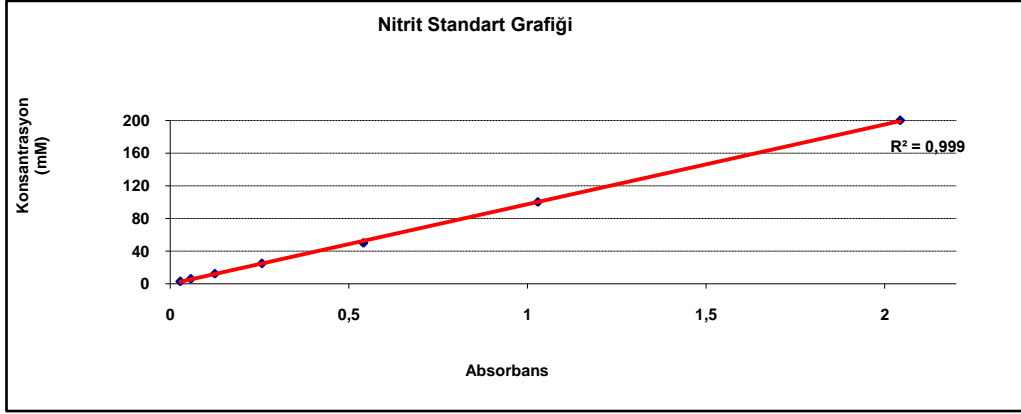
Mikroplak kuyucuklarına 100 µl numune, ve 100 µl griess ayıracı pipetlendi. 30 dakika 37 °C'de etüvde inkübe edildikten sonra absorbanlar 540 nm dalga boyunda okundu.

Tablo 5. Nitrit Ölçüm Yöntemi

	Kör	Test
Distile Su	100 µl	-
Plazma	-	100 µl
Griess Ayıracı	100 µl	100 µl

37 C'de 30 dk inkübe edildikten sonra 540 nm'de okundu.

Kalibrasyon Eğrisinin Hazırlanması: 1 mM'lık stok nitrit ve nitrat çözeltilerinden 200 – 100 – 50 – 25 - 12,5 - 6,25 - 3,125 µM'lık dilüsyonlar hazırlanarak nitrat ve nitrit analizlerindeki işlemler gerçekleştirildi. 540 nm'de köre karşı optik dansiteleri okundu ve kalibrasyon eğrisi çizildi.



Grafik 3. Nitrit Düzeyinin Saptanmasında Kullanılan Kalibrasyon Eğrisi

2.3.6 Sonuçların Hesaplanması

Kalibrasyon eğrisine bakılarak bulunan nitrat ve nitrit konsantrasyonları toplandı ve nitrik oksit konsantrasyonu bulundu **(48)**.

$$\text{Nitrik Oksit } (\mu\text{M}) = \text{Nitrat } (\mu\text{M}) + \text{Nitrit } (\mu\text{M})$$

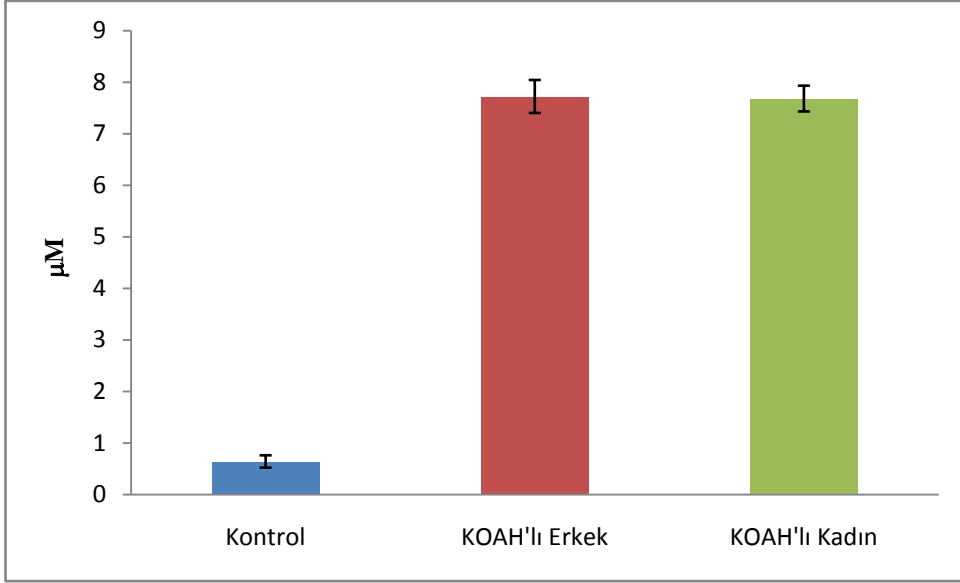
3. BULGULAR

Çalışmada, KOAH'lı erkek ve kadın hastalarda MDA düzeyleri kontrol grubu olarak kullanılan sağlıklı bireylere göre önemli derecede artış gösterirken ($p<0,001$), KOAH'lı kadın ve erkek hastalar arasında istatistiksel açıdan herhangi bir fark belirlenemedi.

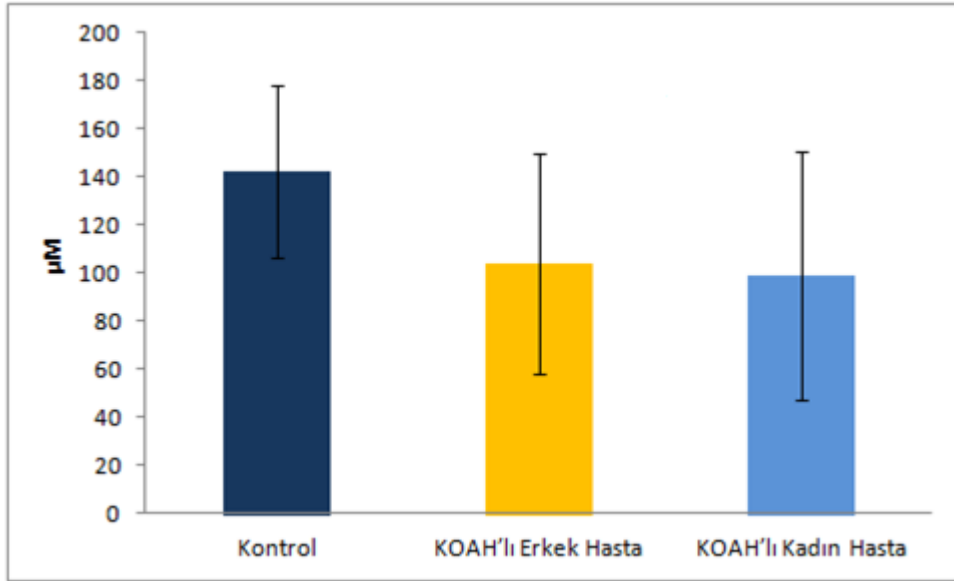
Çalışmada, KOAH'lı erkek ve kadın hastalarda NO düzeyleri kontrol grubu olarak kullanılan sağlıklı bireylere göre önemli derecede düşüş gösterirken ($p<0,001$), kadın ve erkek hastalar arasında istatistiksel herhangi bir fark belirlenemedi.

Tablo 6. KOAH'lı Hastalarda MDA ve NO Düzeyleri

PARAMETRE	KONTROL	KOAH		
	n=20	ERKEK (n=20)	KADIN (n=20)	
MDA ($\mu\text{mol/l}$)	0,64 \pm 0,12 ^a	7,72 \pm 0,32 ^b	7,68 \pm 0,25 ^b	$p<0,001$
NO ($\mu\text{mol/l}$)	142,35 \pm 35,8 ^a	103,51 \pm 45,7 ^b	98,84 \pm 51,6 ^b	$p<0,001$



Grafik 4. KOAH'lı Hastalarda MDA düzeyleri



Grafik 5. KOAH'lı Hastalarda NO düzeyleri

4. TARTIŞMA

Hava yolu obstruksiyonu ile karakterize , yaygın ve kronik bir hastalık olan KOAH, hem iş gücü kaybı hem de tedavi giderleri nedeniyle büyük çapta ekonomik zararlara yol açmaktadır. Yapılan çalışmalar tüm ölümlerin % 2-8'inin sebebinin KOAH olduğunu göstermektedir. Mevcut veriler bu hastalığın dünya genelindeki ölüm nedenleri arasında 3. sırayı alacağını göstermektedir **(9, 20, 69)**.

KOAH'ta ROT-aracılı hücre sinyal yollarının ve inflamatuvar cevabın moleküler mekanizmalarının anlaşılması, antioksidanlar yoluyla yeni tedavi stratejilerinin geliştirilebilmesi açısından son derece önemlidir **(10, 62)**.

Lipitler, oksidatif stresin en önemli biyolojik hedeflerinden biridir. Poliansature yağ asidi peroksidasyonunun düşük molekül ağırlıklı bir son ürünü olan MDA, oksidatif stresin bir belirteci olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır **(27, 67)**. Bugüne kadar, KOAH'ta oksidan/antioksidan dengesinin bozulduğunu ve MDA seviyelerinin arttığını gösteren birçok çalışma yapılmıştır. Nadeem ve ark. **(51)**, tarafından yapılan çalışmada, KOAH hastalarında, sigara içmeyen sağlıklı kontrollere göre, plazma MDA seviyelerinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Joppa ve ark. **(32)** da, KOAH hastalarında serum MDA konsantrasyonlarının daha yüksek; eritrosit GPX aktivitesinin ise daha az olduğunu bulmuşlardır. Kluchova ve ark. **(38)** ise, eritrosit GPX aktivitesindeki düşüklüğün ve serum MDA düzeyindeki yüksekliğin, ağır KOAH'ta, orta şiddetteki KOAH'a göre daha belirgin olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı çalışmada, lineer regresyon analizi, FEV1 değeri ile serum MDA seviyeleri arasında negatif korelasyon olduğunu göstermiştir. Benzer şekilde, Gumral ve ark. **(24)** tarafından yapılan bir çalışmada, KOAH'ın alevlenme periyodunda, stabil döneme göre MDA seviyelerinin daha yüksek olduğu tespit edilmiş ve bu nedenle KOAH

alevlenmesinin artmış oksidatif stresle ilişkili olabileceği öne sürülmüştür. Ayrıca, Sahin ve ark. (71), KOAH alevlenmesinde tedaviyle birlikte MDA seviyelerinin normale döndüğünü bulmuşlar ve MDA'nın KOAH alevlenmesinde tedavinin başarısını gösteren bir belirteç olarak kullanılabileceği sonucuna varmışlardır.

Yapılan çalışmada, KOAH'lı hastalarda MDA düzeylerinin kontrol grubu olarak kullanılan sağlıklı bireylere göre önemli derecede artış gösterdiği ($p < 0,001$) tespit edildi. Bu bulgu, daha önce yapılan birçok çalışmanın sonuçlarıyla uyumludur ve KOAH'ın etyopatogenezinde artmış oksidatif stresin bir rol oynayabileceğini göstermektedir. KOAH'ta artmış oksidatif stresin kaynağı, eksojen (inhale oksidanlar) veya endojen (inflamatuvar hücreler tarafından üretilen ROT) olabilir (62). Hasta grubu kadın bireylerde sigara içimi öyküsü olmamasına rağmen, ortalama MDA düzeyleri, erkek hastalarından istatistiksel olarak farklı değildi. Kadın hastaların tümünde tandır dumanına maruziyet öyküsü vardı ve bu durum, etyolojik faktörler arasındaki farklılığın KOAH'ta MDA düzeyleri üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığını göstermektedir.

Nitrik oksit, nitrik oksit sentaz adı verilen bir grup enzimin etkisiyle hücre içinde L-arjininden üretilen ve vazodilatasyon, sinyal iletimi ve immun cevap gibi birçok hücreyel olayda fonksiyon gören bir moleküldür (19). Nitrik oksit, solunum sistemi üzerinde farklı yönde birçok etki gösterebilir. Bronkodilatasyon, arteriyel vazodilatasyon, mukosilyer klirensin artması, mikroorganizmalar üzerinde oluşturduğu toksik etkiler, nitrik oksidin faydalı etkileri arasında sayılabilir. Bununla birlikte, peroksinitrit üzerinden hücreyel hasarı artırması, hava yollarında oluşan inflamasyonu tetiklemesi, hava yollarında hiperemiye, ödeme ve mukus sekresyonuna yol açması gibi zararlı birtakım etkileri de vardır (55). NO, reaktif oksijen radikallerini bağlayarak, hücreleri oksidatif hasara karşı koruyucu bir özellik gösterebileceği gibi,

NO'dan köken alan reaktif yan ürünler (peroksinitrit gibi), çeşitli biyomoleküller üzerinde nitrozatif hasar da oluşturabilir **(19, 63)**.

KOAH'ta, NO seviyelerinin nasıl etkilendiği ve bunun KOAH patogenezindeki rolü tartışmalıdır **(77)**. Clini ve ark. **(11)** KOAH'lı kişilerde, sağlıklı kontrollere göre, ekshale edilen nitrik oksit seviyelerinin daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca aynı çalışmada, FEV1'i %35'in altında olan şiddetli KOAH'lılarda, FEV1 değeri %35'in üzerinde olan KOAH hastalarına göre, ekshale NO seviyelerinin daha düşük olduğu görülmüştür. Buna karşın Corradi ve ark. **(12)** ekshale edilen NO seviyelerinin, KOAH hastalarında sağlıklı kontrollere göre daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Rutgers ve ark. **(68)** ise, sağlıklı kişiler ve KOAH hastaları arasında ekshale edilen NO oranı, balgam makrofajlarındaki iNOS ekspresyonu ve balgam sıvısındaki nitrat ve nitrit seviyeleri arasında herhangi bir farklılık bulamamışlardır. Aynı şekilde, Nadeem ve ark. **(51)** tarafından yapılan çalışmada da, KOAH hastalarında, sağlıklı kontrollere göre, plazma total nitrat ve nitrit düzeylerinde bir farklılık tespit edilememiştir.

Yapılan çalışmada, KOAH'lı kişilerde, sağlıklı kontrollere göre, NO seviyelerinin daha düşük olduğu tespit edildi. İnflamatuvar çevrenin NO sentezini indüklediği bilinmesine rağmen **(6)**, hava yollarının kronik inflamatuvar bir hastalığı olan KOAH'ta, sağlıklı kontrollere göre NO seviyelerinin daha düşük olması, birkaç şekilde açıklanabilir. Kharitonov ve ark. **(36)** tarafından yapılan bir çalışmada, sigara içenlerde, içmeyenlere göre, ekshale edilen NO seviyelerinin daha düşük olduğu bulunmuştur ve buna dayanılarak sigara içiminin nitrik oksit sentez enzimini inhibe edebileceği öne sürülmüştür. Ayrıca, NO'in vazokonstrüksiyonu ve bronkokonstrüksiyonu giderici, platelet agregasyonunu azaltıcı, enfeksiyon etkenlerine karşı koruyucu etkileri olduğundan dolayı, sigara içenlerde kronik respiratuvar ve kardiyovasküler hastalıkların riskinin artmasının, NO

azalmasıyla ilişkili olabileceği de ifade edilmiştir. Benzer şekilde Corradi ve ark. (12), sigara içen sağlıklı kişilerde nitrik oksit seviyelerinin azaldığını; ayrıca sigara içmeye devam eden KOAH hastalarında, sigara içmeyi bırakmış KOAH hastalarına göre, NO düzeylerinin daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir. Bu bulgular, sigara içiminin NO sentezini bozduğunu ve nitrik oksidin bronkodilatasyon, mukosilyer klirensin artması, mikroorganizmalarla mücadele gibi etkilerini engelleyerek KOAH gelişimine zemin hazırlayabileceğini düşündürmektedir. KOAH'lı kişilerde NO düzeylerini daha düşük olması, tedavide kullanılan kortikosteroidlerle de ilişkili olabilir: Kortikosteroid tedavisinin, iNOS'u baskılayarak NO seviyelerini azaltabileceği gösterilmiştir (6, 63, 86). Bu durum, steroid tedavisinin birtakım faydalı etkilerinin yanında, bazı zararlı yan etkilere de yol açabileceğini akla getirmektedir (77). KOAH hastalarında, sigara içimi ve kortikosteroidler dışında, NO üretimini baskılayan başka birtakım faktörler de olabilir.

Sonuç olarak, yapılan çalışmada KOAH hastalarında, sağlıklı kontrollere göre MDA seviyelerinin arttığı ve NO seviyelerinin azaldığı tespit edildi. KOAH'ta MDA seviyelerinin artması, daha önce yapılan pek çok bilimsel çalışmaya paralel şekilde, KOAH patogenezinde oksidatif stresin önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir. NO seviyelerindeki azalmanın, KOAH hastalarının sigara kullanma alışkanlığı veya tedavide aldıkları kortikosteroid ilaçlarla ilişkili olabileceği kanaatine varıldı. NO seviyelerindeki bu azalma, KOAH'ta görülen hava yolu obstruksiyonunun gelişimine katkıda bulunabilir. Bununla birlikte, NO molekülünün solunum sistemi üzerinde faydalı veya zararlı birçok farklı etki ortaya çıkarabileceği de unutulmamalıdır. KOAH etyopatogenezinde artmış oksidatif stres ve NO sentezindeki muhtemel değişikliklerin moleküler mekanizmaları ile klinik yansımalarının yeterince anlaşılabilmesi için, daha fazla sayıda ve daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

5.ÖZET

Kronik obstruktif akciğer hastalığı (KOAH), hava yolu inflamasyonu ile bronşiol ve alveol duvarlarının harabiyeti ile karakterize kronik, ilerleyici ve inflamatuvar bir hastalıktır. Oksidan/antioksidan dengesizliğinin KOAH patogenezinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Bu çalışmada KOAH'lı hastalarda MDA ve NO seviyelerinin araştırılması amaçlandı.

KOAH'lı 40 hasta (20 erkek, 20 kadın) ve 20 sağlıklı kontrol (11 erkek, 9 kadın) çalışmaya dahil edildi. Plazma MDA seviyeleri Yoshioka ve ark. tarafından tanımlanan metoda göre ve plazma NO seviyeleri Miranda ve ark. tarafından tanımlanan metoda göre belirlendi.

Plazma MDA seviyeleri KOAH'lı kişilerde (erkekler için 7.72 ± 0.32 $\mu\text{mol/L}$ ve kadınlar için 7.68 ± 0.25 $\mu\text{mol/L}$) kontrollerden (0.64 ± 0.12 $\mu\text{mol/L}$) önemli ölçüde daha yüksek, KOAH'lı kadın ve erkekler arasında ise benzer olarak saptandı. Plazma NO seviyeleri kontrol grubu (142.35 ± 35.8 μM) ile karşılaştırıldığında hasta grubunda (erkeklerde 103.51 ± 45.7 ve kadınlarda 98.84 ± 51.6) önemli ölçüde daha düşük iken KOAH'lı kadın ve erkekler arasında benzerlik bulunamadı.

Sonuç olarak, yapılan çalışmada KOAH hastalarında MDA seviyelerindeki artıran oksidatif stresle, NO seviyelerindeki azalmanın ise sigara kullanımı veya tedavi amacı ile alınan kortikosteroid ilaçlarla ilişkili olabileceği kanısına varıldı.

Bununla birlikte bu hastalığın gelişimi ile ilişkili mekanizmaların daha iyi anlaşılabilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Kronik obstruktif akciğer hastalığı, malondialdehit, nitrik oksit

6.SUMMARY

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is a chronic, progressive, and inflammatory disease characterized by bronchiolar and alveolar wall damage and airway inflammation. Oxidant/antioxidant imbalance is considered as an important factor in the pathogenesis of COPD. The purpose of this study was to investigate the levels of MDA and NO in patients with COPD.

Forty patients with COPD (20 men, 20 women) and twenty healthy controls (11 men, 9 women) were included in this study. Plasma MDA and NO levels were determined according to the methods described by Yoshioka et al. and MirHER anda et al., respectively.

Plasma MDA levels were significantly higher in subjects with COPD ($7.72 \pm 0.32 \mu\text{mol/L}$ for men and $7.68 \pm 0.25 \mu\text{mol/L}$ for women) compared with control group ($0.64 \pm 0.12 \mu\text{mol/L}$). The MDA levels were similar between men and women with COPD. Plasma NO levels were significantly lower in patient group (103.51 ± 45.7 for men and $98.84 \pm 51.6 \mu\text{M}$ for women) compared with control group ($142.35 \pm 35.8 \mu\text{M}$). The NO levels were similar between men and women with COPD.

In conclusion, our findings indicate that higher MDA levels in COPD group may be related to oxidative stress. Furthermore, the decrease in NO levels may be associated with smoking or with the use of steroids as a therapeutic agent.

However, further studies should be performed in order to better understand the pathologic process that leads to the disease.

Key words: Chronic obstructive pulmonary disease, malondialdehyde, nitric oxide.

7. KAYNAKLAR

1. Akar, B., Ozyardımcı, N: Kronik bronşit ve sigara. Akciğer Arşivi. 1: 45-48, 2002.
2. Akkuş; İ., Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza yay, Konya, 1995.
3. American Thoracic Society-European Respiratory Society. Standards for the diagnosis and management of patients with COPD. 1-222. 6, 2004.
4. Arthur, JR.: The glutathione peroxidases. Cell Mol Life Sci. 57 (13-14):1825-35, 2000.
5. Asad, SF., Singh, S., Ahmad, A., Khan, NU., Hadi SM.: Prooxidant and antioxidant activities of bilirubin and its metabolic precursor biliverdin: a structure-activity study. Chem Biol Interact. 31;137(1):59-74, 2001.
6. Barnes, PJ.: Nitric oxide and airway disease. Ann Med. 27(3):389-93,1995.
7. Becher, BF., Reinholz, N., Leipert, B., Raschke, P., Parmanetter, B., Gerlach, E.: Role of uric acid as an endogenous radical scavenger and antioxidant. Chest. 100:176-181, 1991.

8. Bruch-Gerharz, D., Ruzicka, T., Kolb-Bachofen, V.: Nitric oxide and its implications in skin homeostasis and disease-a review. *Arch Dermatol Res.* 290:643-51,1998.
9. Carolan, BJ., Sutherland, ER.: Clinical phenotypes of chronic obstructive pulmonary disease and asthma: recent advances. *J Allergy Clin Immunol.*131:627-34, 2013.
10. Chung, KF., Marwick, JA.: Molecular mechanisms of oxidative stress in airways and lungs with reference to asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Ann N Y Acad Sci.* 1203:85-91, 2010.
11. Clini, E., Bianchi, L., Pagani, M., Ambrosino, N.: Endogenous nitric oxide in patients with stable COPD: correlates with severity of disease. *Thorax* 53:881–3,1998.
12. Corradi, M., Majori, M., Cacciani, GC., Consigli, GF., de'Munari, E., Pesci, A.: Increased exhaled nitric oxide in patients with stable chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax.* 54(7):572-5,1999.
13. Çavdar, C., Sifil, A., Çamsarı, T.: Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. *Tr. Nefrol. ve Transplant Derg.* 3-4: 92-95, 1997.
14. Çaylak, E.: Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar. *Tıp Araş Derg.* 9 (1) : 73-83, 2011.

15. Çekmen, MB., Turgut, M., Türköz, Y., Aygün, AD., Gözükara, EM.: Nitrik oksit ve nitrik oksit sentazın fizyolojik ve patolojik özellikleri. *Tr Klin Pediatri*. 10. 226-236, 2001.
16. De Grey, AD.: HO₂*: the forgotten radical. *DNA Cell Biol*. 21(4):251-7, 2002.
17. Demir, R.: Kronik obstruktif akciğer hastalığı: tanım, epidemiyoloji ve risk faktörleri. *Tr Klinik Göğüs Hast Derg*. 1: 1-6, 2003.
18. Dickinson, DA., Forman, HJ.: Cellular glutathione and thiols metabolism. *Biochem Pharmacol*. 64(5-6):1019-26, 2002.
19. Drew, B., Leeuwenburgh, C.: Aging and the role of reactive nitrogen species. *Ann N Y Acad Sci*. 959:66-81, 2002.
20. Elofsson, LC., Öhlen, J.: Meanings of being old and living with chronic obstructive pulmonary disease. *Palliat Med*. 18(7):611-8, 2004.
21. Evliyaoğlu, O., Kaya, H., Tanrikulu, AÇ., ve ark.: KOAH'ta Nitrik oksit ve total antioksidan kapasite düzeylerinin ölçümü. *İzmir Göğüs Hast Derg*. XXV,1:21-25, 2011.
22. GAO, Z.: The anti-oxidant effect of nitric oxide. *Iowa University*. Free radical and radiation biology program. Iowa. 2, 2003.

- 23.** Gori, T., Münzel, T.: Oxidative stress and endothelial dysfunction: therapeutic implications. *Ann Med.* 43(4):259-72, 2011.
- 24.** Gumral, N., Naziroglu, M., Ongel, K., et al.: Antioxidant enzymes and melatonin levels in patients with bronchial asthma and chronic obstructive pulmonary disease during stable and exacerbation periods. *Cell Biochem Funct.* 27(5):276-83, 2009.
- 25.** Gunen, H., Hacıevliyagil, SS., Yetkin, O., et al.: Prevalence of COPD: first epidemiological data from a large region of Turkey. *Euro İnter Med.* 19:499-504, 2008.
- 26.** Güray, A., Samancı, N., Ovalı, F., Dağoğlu, T.: Nitrik oksit: fizyolojisi ve klinik önemi. *Tr Klin J Med Sci.* 17. 115-119, 1997.
- 27.** Halliwell, B., Chirico, S.: Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *Am J Clin Nutr.* 57:715-24,1993.
- 28.** Herzog, R., Cunningham-Rundles, S.: Immunologic impact of nutrient depletion in chronic obstructive pulmonary disease. *Curr Drug Targets.* 12(4):489-500, 2011.
- 29.** Hill, AT., Bayley, D., Stockley, RA.: The inter relationship of sputum inflammatory markers in patients with chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 160: 893-898, 1999.

30. Ignarro, L.J., Buga, G.M., Wood, K.S., Byrns, R.E., Chaudhuri, G.: Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. Proc Natl Acad Sci. 84: 9265-9, USA, 1987.

31. Jaakkola, M.S., Jaakkola, J.J.: Adverse health effects of passive smoking. Duodecim.128(10):1097-106, 2012.

32. Joppa, P., Petrasova, D., Stancak, B., Dorkova, Z., Tkacova, R.: Oxidative stress in patients with COPD and pulmonary hypertension. Wien Klin Wochenschr. 119:428-34, 2007.

33. Kayalı, R., Çakatay, U.: Protein oksidasyonunun ana mekanizmaları. Cerrah Paşa Tıp Derg. 35(2): 83-89, 2004.

34. Kehrer, J.P., Lund L.G.: Cellular reducing equivalents and oxidative stress. Free Radic Biol Med. 17(1):65-75, 1994.

35. Kehrer, J.P.: The Haber-Weiss reaction and mechanism of toxicity. Toxicol. 149:43-50, 2000.

36. Kharitonov, S.A., Robbins, R.A., Yates, D., Keatings, V., Barnes, P.J.: Acute and chronic effects of cigarette smoking on exhaled nitric oxide. Am J Respir Crit Care Med. 52(2):609-12,1995.

37. Kılınç, K., Kılınç, A.: Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. Hacettepe Tıp Derg. 33 (2): 110-118, 2002.

- 38.** Kluchova, Z., Petrasova, D., Joppa, P., Dorkova, Z., Tkacova, R.: The association between oxidative stress and obstructive lung impairment in patients with COPD. *Physiol Res.* 56:51-6, 2007.
- 39.** Kocabaş A. KOAH'ta doğal gelişim. In Umut S, Yıldırım Y (eds). *Kronik obstrüktif akciğer hastalığı.* İstanbul, 10-27, 2005.
- 40.** Kocabaş, A.: *Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı.* Toraks derneği Okulu 4. Kış okulu Bilimsel Programı. s: 272-8, 2005.
- 41.** Konukoğlu, D., Akçay, T.: Glutasyon metabolizması ve klinik önemi. *Türkiye Klinikleri J Med Sci.* 15:214-218,1995.
- 42.** Kuyumcu, A., Düzgün, A.P., Özmen, M.M., Besler, H.T.: Travma ve enfeksiyonda nitrik oksidin rolü. *Ulus Travma Derg.* 10(3):149-159, 2004.
- 43.** Mak, JC.: Pathogenesis of COPD. Part II. Oxidative-antioxidative imbalance. *Int J Tuberc Lung Dis.* 12(4):368-74, 2008.
- 44.** Mannino, DM., Homa, DM., Akinbami, LJ.,Ford, ES., Redd, SC.: Chronic obstructive pulmonary disease surveillance—United States, 1971–2000. *Ön MMWR.* 51: 1-16, 2002.
- 45.** Mannino, DM.: Chronic obstructive pulmonary disease: definition and epidemiology. *Respir Care.* 48:1185-1191, 2003.

- 46.** Marang-van de Mheen, PJ., Smith, GD., Hart, CL., Hole, DJ.: Are women more sensitive to smoking than men? Finding from the Renfrew and Paisley study. *Int J Epidemiol.* 30:787-792, 2001.
- 47.** Marklund, SL.: Human copper-containing superoxide dismutase of high molecular weight. *Proc Natl Acad Sci USA.* 79:7634-7638, 1982.
- 48.** Miranda, KM., Espey, MG., Wink, DA.: A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide: Biol Chem.*, 5(1): 62-71, 2001.
- 49.** Mullen, JB., Wright, JL., Wiggs, BR., Pare, PD., Hogg, JC.: Reassessment of inflammation of airways in chronic bronchitis. *BMJ.* 291: 1235-1239, 1985.
- 50.** Murray, CJL., Lopez, AD.: Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. *Lancet.* 349:1498-1504, 1997.
- 51.** Nadeem. A., Raj, HG., Chhabra, SK.: Increased oxidative stress and altered levels of antioxidants in chronic obstructive pulmonary disease. *Inflammation.* 29(1):23-32, 2005.

- 52.** Neofytou, E., Tzortzaki, EG., Chatziantoniou, A., Siafakas NM.: DNA damage due to oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Int J Mol Sci.* 13(12), 2012.
- 53.** Niedbala, W., Wei, XQ., Piedrafita, D., Liew, FY.: Effects of nitric oxide on the induction and differentiation of Th1 cells. *Eur J Immunol.* 29:2498-2505, 1999.
- 54.** Ozbay, B., Uzun, K., Arslan, H., Zehir, I.: Functional and radiological impairment in women highly exposed to indoor biomass fuels. *Respirol.* 6: 255-258, 2001.
- 55.** Özkan, M., Yüksekol, İ.: Nitrik oksit ve akciğerler. *Tr Toraks Derg.* 4 (1): 88-94, 2003.
- 56.** Pastukh, VM., Zhang, L., Ruchko, MV. et al.: Oxidative DNA damage in lung tissue from patients with COPD is clustered in functionally significant sequences. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 6:209-17, 2011.
- 57.** Pauwels, RA., et al.: Global strategy for the diagnosis, management and prevention of chronic pulmonary disease. NHLBI/WHO global initiative for chronic obstructive lung disease (GOLD). workshop summary. *Am J Respir Crit Care Med.* 163: 1256-1276, 2001.

- 58.** Peinado, VI., et al.: Inflammatory reaction in pulmonary muscular arteries of patients with mild chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 159: 1605-1611, 1999.
- 59.** Plekhova, NG., Somova, LM.: The physiological role of nitric oxide in infectious process. *Usp Fiziol Nauk.* 43(3):62-81, 2012.
- 60.** Rabe, KF., Hurd, S., Anzueto, A., et al.: Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD executive summary. *Am J Respir Crit Care Med.* 15;176(6):532-55, 2007.
- 61.** Raheison, C., Girodet, PO.: Epidemiology of COPD. *Eur Respir Rev.* 18:213-221, 2009.
- 62.** Rahman, I.: Oxidative stress and gene transcription in asthma and chronic obstructive pulmonary disease: antioxidant therapeutic targets. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy.* 1:291-315, 2012.
- 63.** Redington, AE., Meng, QH., Springall, DR., et al.: Increased expression of inducible nitric oxide synthase and cyclo-oxygenase-2 in the airway epithelium of asthmatic subjects and regulation by corticosteroid treatment. *Thorax.* 56(5):351-7, 2001.

- 64.** Reiter, R., Tang, L., Garcia, JJ., Munoz-Hoyos, A., Pharmacological actions of melatonin in oxygen radical pathophysiology. *Life Sci.* 60:2255-2271, 1997.
- 65.** Reiter, RJ., Tan, DX., Mayo, JC., Sainz, RM., Leon, J., Czarnocki, Z.: Melatonin as an antioxidant: biochemical mechanisms and pathophysiological implications in humans. *Acta Biochim Pol.* 50(4):1129-1246, 2003.
- 66.** Repine, JE., Bast, A., Lankhorst, I., and Oxidative Stress Study Group: Oxidative stress in COPD.. *Am J Respir Crit Care Med.* 156: 341-357, 1997.
- 67.** Rio DD., Stewart, AJ., Pellegrini, N.: A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Met Cardiovasc Dis.* 15(4):316-28, 2005.
- 68.** Rutgers, SR., van der Mark, TW., Coers, W., et al.: Markers of nitric oxide metabolism in sputum and exhaled air are not increased in chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax.* 54(7):576-80, 1999.
- 69.** Rycroft, CE., Heyes, A., Lanza, L., Becker, K.: Epidemiology of chronic obstructive pulmonary disease: a literature review. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis.* 7:457-94, 2012.

- 70.** Saetta, M., Di Stefano, A., et al.: CD8+ T- lymphocyte in peripheral airways of smokers with COPD. *Am J Respir Crit Care Med.* 157: 822-826, 1998.
- 71.** Sahin, U., Unlü, M., Ozgüner, F., Sütcü, R., Akkaya, A., Delibas, N.: Lipid peroxidation and glutathione peroxidase activity in chronic obstructive pulmonary disease exacerbation: prognostic value of malondialdehyde. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 12(1):59-68,2001.
- 72.** Salvi, S., Blomberg, A., et al.: Acute inflammatory responses in the airway and peripheral blood after short-term exposure to diesel exhaust in healthy human volunteers. *Am J Respir Crit Care Med.* 159: 702-709, 1999.
- 73.** Siafakas, NM., Vermeire, P., et al.: Optimal assessment and management of COPD. *Eur Respir J.* 8: 1398-1420, 1995.
- 74.** Silverman, EK., Weiss, ST., Drazen, JM., et al.: Gender-Related differences in severe, early –onset chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med.*162:2152-2158, 2000.
- 75.** Spurzem, JR., Rennard, SI.: Pathogenesis of COPD. *Semin Respir Crit Care Med.* 26:142-153, 2005.
- 76.** Stamler, J.S., Singel, D.J., Loscalzo, J.: Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms. *Sci.* 258 (5090):1898-1902, 1992

- 77.** Sterk, P., De Gouw, HWFM., Ricciardolo, F., Rabe, K.: Exhaled nitric oxide in COPD: glancing through a smoke screen. *Thorax*. 54(7): 565–567,1999 .
- 78.** Stocker, R., Antioxidant activities of bile pigments. *Antioxidants & redox signaling*. 6:5,2004.
- 79.** Tam, A., Sin, DD.: Pathobiologic mechanisms of chronic obstructive pulmonary disease. *Med Clin North America*. 96:681-698, 2012.
- 80.** Tamer, L., Serbest radikaller. *Mersin Üniv Tıp Fak Derg*. 1: 52-58, 2000.
- 81.** Tavilani, H., Nadi, E., Karimi, J., Goodarzi, MT.: Oxidative Stress in COPD Patients, Smokers, and Non-smokers. *Respir Care*. Dec;57(12), 2012.
- 82.** Toraks Derneği Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı Tanı ve Tedavi Rehberi. *Toraks Derg*. 1(2): 1-25, 2000.
- 83.** Tuder, RM., Janciauskiene, SM., Petrache I.: Lung disease associated with alpha1-antitrypsin deficiency. *Proc Am Thorac Soc*. 7(6):381-386, 2010.
- 84.** Türköz, Y., Özerol, E.: Nitrik oksitin etkileri ve patolojik rolleri. *J Turgut Ozal Medical Center*. 4(4):453-461, 1997.

- 85.** Weiss, ST., DeMeo, DL., Postma, DS.: COPD: problems in diagnosis and measurement. *Eur Respir J.* 41(suppl):p4-12, 2003.
- 86.** Worrall, NK., Misko, TP., Sullivan, PM., Hui, JJ., Rodi, CP., Ferguson, TB Jr.: Corticosteroids inhibit expression of inducible nitric oxide synthase during acute cardiac allograft rejection. *Transplantation.* 27;61(2):324-8, 1996.
- 87.** Wright, JL., Lawson, L., Pare PD. et al.: The structure and function of the pulmonary vasculature in mild chronic obstructive pulmonary disease. The effect of oxygen and exercise. *Am Rev Respir Dis.* 128: 702-707, 1983.
- 88.** Yoshioka, T., Kawada, K., Shimada, T., Mori, M.: Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against active-oxygen toxicity in the blood. *Am J Obstet Gynecol.*, 135: 372-376, 1979.
- 89.** Young, IS., Woodside, JV.: Antioxidants in health and disease. *J Clin Pathol.* 54:176-186, 2001.

8. ÖZGEÇMİŞ

1982 Yılında Kars'ta doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Kars'ta tamamladı. 2000 yılında girdiği Kafkas Üniversitesi Kars Meslek Yüksekokulu Laboratuvar programından 2002 yılında mezun oldu ve aynı yıl Kars SSK hastanesinde laborant olarak göreve başladı. 2004 yılında girdiği Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümündeki eğitimini 2008 yılında tamamlayarak 2009 yılında Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalında Yüksek Lisansa başladı. 2006 yılında 2 yıl süre ile Özel bir Poliklinik işletmesi yaptı. 2007 yılında Sağlık Bakanlığı Kars Devlet Hastanesine atandı ve halen aynı hastanede Hasta Hizmetleri ve Sağlık Otelciliği Müdürü olarak görev yapmaktadır. Evli, Tubanur ve Zehra isiminde iki kız çocuğu babasıdır.

9.TEŞEKKÜR

Bu çalışmamın her aşamasında yakın ilgi ve desteğini gördüğüm danışman hocam Prof. Dr. Ayla ÖZCAN'a, Biyokimya kürsüsünün değerli büyüğü Prof. Dr. Şaban MARAŞLI'ya, laboratuvar çalışmalarım ve eğitimimde yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Mahmut KARAPEHLİVAN'a, Bölüm hocalarım Doç. Dr. Onur ATAKİŞİ ve Doç. Dr. Emine ATAKİŞİ'ye, istatistik-laboratuvar ve diğer çalışmalarımda yakın ilgisini gördüğüm Yrd. Doç. Dr. Metin ÖĞÜN'e ve Yrd. Doç. Dr. Oğuz MERHAN'a, çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen Kars Devlet Hastanesi Biyokimya uzmanı Dr. Fatih KARA'ya, desteğini her zaman hissettiğim sevgili eşim'e ve yaşama sevincim olan kızlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.