

T.C
GENELKURMAY BAŐKANLIĐI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
HAYDARPAŞA EĞİTİM HASTANESİ
GÖĞÜS HASTALIKLARI VE TÜBERKÜLOZ
SERVİS őEFLİĐİ

GENÇ ERİŞKİN BRONŞEKTAZİ HASTALARINDA SERUM VE
BRONKO ALVEOLER LAVAJ SIVISINDA İNFLAMATUAR
SİTOKİN DÜZEYLERİ VE GEN POLİMORFİZMİ İLE GENETİK
YATKINLIK İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ

GÜLHAN AYHAN
Hv. Tbp. Bnb.

GÖĞÜS HASTALIKLARI VE TÜBERKÜLOZ
UZMANLIK DALI

TIPTA UZMANLIK TEZİ
İSTANBUL
2012

**T.C
GENELKURMAY BAŐKANLIĐI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
HAYDARPAŞA EĞİTİM HASTANESİ
GÖĞÜS HASTALIKLARI VE TÜBERKÜLOZ
SERVİS őEFLİĐİ**

**GENÇ ERİŞKİN BRONŞEKTAZİ HASTALARINDA SERUM VE
BRONKO ALVEOLER LAVAJ SIVISINDA İNFLAMATUAR
SİTOKİN DÜZEYLERİ VE GEN POLİMORFİZMİ İLE GENETİK
YATKINLIK İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ**

**GÜLHAN AYHAN
Hv. Tbp. Bnb.**

Gülhane Askeri Tıp Akademisi
Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Komutanlığı'nın
Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Programı
İçin Öngördüğü

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

**TEZ DANIşMANI
OĞUZHAN OKUTAN
Doç. Hv. Tbp. Kd. Alb.**

İSTANBUL

2012

GATA Askeri Tıp Fakóltesi Dekanlığı'na:

“Genç erişkin bronşektazi hastalarında Serum ve Bronko Alveoler Lavaj Sıvısında Sitokin Seviyeleri ve Gen Polimorfizmi ile Genetik Yatkınlık İlişkisinin İncelenmesi” konulu bu çalışma jürimiz tarafından Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Bilim Dalı'nda uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : Doç. Hv. Tbp. Kd. Alb. Oğuzhan OKUTAN

Üye Prof. Tbp. Tuğamiral Hayati BİLGİÇ

Üye Doç. Hv. Tbp. Kd. Alb Oğuzhan OKUTAN

Üye Doç. Tbp. Kd. Alb. Faruk ÇİFTÇİ

Üye Doç. Tbp.Kd. Alb. Ergün TOZKOPARAN (Yedek)

ONAY:

Hv. Tbp. Bnb. Gülhan AYHAN'ın 18 Eylül 2012 tarihinde savunduğu bu tez Akademi Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

Sadettin ÇETİNER

Prof. Tbp. Tümgeneral

GATA Komutan Bilimsel Yardımcısı

Askeri Tıp Fakóltesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince, bilgi ve tecrübeleri ile beni yönlendiren, her konuda desteğini esirgemeyen, bilimsel çalışma disiplini ve azmini örnek aldığım çok değerli sayın hocam GATA ANKARA Göğüs Hastalıkları AB. Başkanı Prof. Tbp. Tuğamiral Hayati BİLGİÇ' e minnet ve şükranlarımı sunarım.

Göğüs Hastalıkları asistanlık eğitimimin ilk 4 yılında servis şefliğimizi yapan ve bana tez konusunu veren Yüksek Bilim Konseyi Üyesi Prof. Dz. Tbp. Kd. Alb. Zafer KARTALOĞLU' na, eğitimim boyunca bilgi ve tecrübeleri ile bana önderlik eden ve her konuda desteklerini yanımda hissettiğim Doç. Tbp. Kd. Alb. Faruk ÇİFTÇİ' ye Yrd. Doç. Tbp. Alb. Dilaver TAŞ'a, Yrd. Doç. Bnb. Tayfun ÇALIŞKAN' a ve Yrd. Doç. Tbp. Bnb. Ersin DEMİRER' e minnet ve şükranlarımı sunarım.

Tezimin her aşamasında kıymetli zamanlarını esirgemeyen ve hekimlik ve araştırma konusunda bilgi ve tecrübelerini paylaşan, her zaman desteğini gördüğüm tez danışmanım değerli hocam ve aynı zamanda Servis şefimiz Doç. Hv. Tbp. Kd. Alb. Oğuzhan OKUTAN' a saygılarımı arz ederim.

Laboratuvar uygulamalarında bilgi ve deneyimleri ile yol gösteren Doç. Tbp. Alb. Orhan BAYLAN'a, Doç. Tbp. Yb. Ömer ÖZCAN'a, Doç. Tbp. Alb. Dilaver DEMİREL' e ve Yrd. Doç. Tbp. Bnb. İsmail YILMAZ' a, Biyokimya servisi ve Mikrobiyoloji Servisi'nde eğitimlerini sürdüren asistan arkadaşlarıma ve tüm laboratuvar personeline şükranlarımı sunarım.

İstatistik analizlerindeki katkılarından dolayı ve her zaman bana değerli zamanını ayıran, yardımlarını esirgemeyen Murat MUTLU ve Özlem KÖKSAL' a teşekkür ederim. Eğitim dönemim ve tez çalışmam süresince bana destek veren başta asistan arkadaşlarım olmak üzere tüm servis çalışanlarına teşekkür ederim.

Çalışmalarımı sürdürürken sıkıntılara göğüs germekte zorlandığım anlarda bana güç veren ve sabırlarını esirgemeyen anneme, babama, kardeşlerime ve canımdan çok sevdiğim oğluma teşekkür ederim.

Hv. Tbp. Bnb. Gülhan AYHAN

ÖZET

Hv. Tbp. Bnb. Gülhan AYHAN

Genç Erişkin Bronşektazi Hastalarında Serum ve Bronko Alveoler Lavaj Sıvısında İnflamatuvar Sitokin Düzeyleri ve Gen Polimorfizmi İle Genetik Yatkınlık İlişkisinin İncelenmesi.

Bronşektazinin sıklığı gelişmiş ülkelerde giderek azalmasına rağmen ülkemizin de içinde bulunduğu gelişmekte olan ülkelerde halen önemini koruyan kronik alt solunum yolu hastalığıdır. Bu çalışma kliniğimizde bronşektazi tanısı ile takip edilen 40 hasta ve 20 kontrol olmak üzere 60 bireyden oluşan bir grubu içermektedir. Çalışmanın amacı, bronşektazili hastalarda proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokin düzeylerinin tespiti ile hastalarda gözlenebilecek yeni immün parametreler bulmak, bu inflamasyonun sürekliliğini ortaya koymak ve devam eden bu kronik inflamasyonun klinik özellikler, sigara içimi ve demografik özellikler ile kıyaslamasını yapmak ve bu kronik inflamasyondaki sitokinlerin gen polimorfizminin araştırılması ile yatkınlığı olabilecek hastaların tesbitini sağlamaktır.

Bu çalışmada bronşektazi olgularında ve kontrol grubunda sistemik ve lokal (pulmoner) inflamasyonu göstermek için; tam kan sayımında lökosit sayısı (nötrofil, bazofil, eozinofil, lenfosit, monosit, sedimentasyon değeri, CRP düzeyi, İmmünglobulin (IgM, IgG, IgA, IgE) seviyeleri, kompleman seviyeleri (C3, C4), serumda ve bronko alveoler lavaj sıvısında sitokinlerin (IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α) düzeyleri ELISA yöntemi ile belirlenmiş olup, kontrol grubu ile karşılaştırıldı. Ayrıca hastaların tam kan örneklerinden elde edilen DNA' larından otomatik dizi analizi yöntemi ile gen polimorfizmleri çalışıldı ve kontrol grubu ile kıyaslandı. Çalışma sonucunda hasta grubunda serum ve BAL' da İL-8 düzeylerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu, İL-10 düzeylerinin kontrol grubuna göre daha düşük ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanırken ($p<0,05$), diğer sitokinler istatistiksel olarak anlamlı saptanmadı ($p>0,05$).

Bu tez çalışması kapsamında 40 hasta ve 20 kontrol olmak üzere 60 bireyden oluşan bir grupta IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α sitokinlerinin genine ait,

promotor bölgesinin de yer aldığı 5' uç bölgelerinin genetik analizleri gerçekleştirilmiştir. Genetik varyantların belirlenebilmesi için; 5' uç ve promotor bölgeleri uygun primerler ile amplifiye edilmiştir. Bu tez çalışmasında bronşektazili ve normal bireylerde otomatik DNA dizi (sekans) analizi yöntemiyle 5' uç ve promotor bölgelerinde sekiz adet polimorfizm çalışıldı. Tanımlanan bu sitokin gen polimorfizmlerinden iL-6 -174 G/C ve İL-10 -592 A/C ve İL-10 -819 T/C promotor bölgelerinde hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptandı ($p < 0,05$) ancak diğer polimorfizmler ile bronşektazi arasında anlamlı ilişki bulunamadı ($p > 0,05$).

Bu çalışmada IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α geni 5' uç bölgesinde küçük bir grupta saptanan polimorfizmlerin ve sıklıklarının, bronşektazili ve normal gruplarda anlamlı farklar oluşturup oluşturmadıkları, polimorfizmlerden hangisinin/hangilerinin sitokin geninin özelliklerini etkileme potansiyeline sahip oldukları ve polimorfizmler arasında bağlantı olup olmadığının veya bağlantı varsa hangileri arasında olduğunun belirlenebilmesi için çalışmaların klinik olarak tanımlanmış 1000 kişilik geniş boyutlu hasta ve kontrol gruplarında yapılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Bronşektazi, patogeneze, inflamasyon, sitokin seviyesi, DNA Dizi Analizi, gen polimorfizmi, genetik yatkınlık

Destekleyen Kurumlar : Yok

Yazar Adı : Hv. Tbp. Bnb. Gülhan AYHAN

Danışman : Doç. Hv. Tbp. Kd. Alb. Oğuzhan OKUTAN

SUMMARY

Author: Gülhan AYHAN First Lieutenant M.D.

Keywords:

Counselor: Colonel Oğuzhan OKUTAN, M. D., Professor in Pulmonary Disease and Tuberculosis, Gulhane Military Medicine Academy, Haydarpasa Training Hospital



İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	3
TEŞEKKÜR	3
ÖZET	5
İNGİLİZCE ÖZET	6
İÇİNDEKİLER	ix
TABLO LİSTESİ	11
ŞEKİL LİSTESİ	12
KISALTMA LİSTESİ	15
1. GİRİŞ	16
2. GENEL BİLGİLER	16
2.1. Bronşektazinin Tanımı	Error! Bookmark not defined.
2.2. Bronşektazinin Tarihçesi	4
2.3. Bronşektazinin Epidemiyolojisi	6
2.4. Bronşektazinin Etyolojisi	Error! Bookmark not defined.
2.5. Bronşektazinin Sınıflandırılması	Error! Bookmark not defined.
2.6. Bronşektazinin Patogenezi	Error! Bookmark not defined.
2.6.1. Kronik Enfeksiyon ve İnflamasyon	Error! Bookmark not defined.
2.6.2. Bronşiyal Obstruksiyon	Error! Bookmark not defined.
2.6.3. Bronşektazi Gelişiminde İmmün Sistem ve Stokinlerin Rolü	Error! Bookmark not defined.
2.7. Bronşektazinin Klinik Değerlendirmesi	Error! Bookmark not defined.
2.7.1. Klinik Özellikler	Error! Bookmark not defined.
2.7.2. Radyolojik Özellikler	Error! Bookmark not defined.
2.7.3. Mikrobiyolojik Özellikler	Error! Bookmark not defined.
2.7.4. Solunum Fonksiyon Testleri Özellikleri	Error! Bookmark not defined.
2.7.5. Ayırıcı Tanı	Error! Bookmark not defined.

2.8.	Bronşektazide Tedavi ve İzlem	Error! Bookmark not defined.
3.	GEREÇ VE YÖNTEMLER	63
3.1.	Çalışmaya Alınma Kriterleri	63
3.2.	Dışlanma Kriterleri	63
3.3.	Hasta ve Kontrol Grubunun Demografik Bilgileri	63
3.4.	Hasta ve Kontrol Grubu Serum Örneklerinin Alınması ve Saklanması	64
3.5.	Hasta ve Kontrol Grubu Bronko Alveoler Lavajı Örneklerinin Alınması ve Saklanması	64
3.6.	Hasta ve Kontrol Grubunun Serum Örneklerinde ELİSA Yöntemi ile İL-6, İL-8, İL-10 ve TNF- α Düzeylerinin Belirlenmesi	65
3.7.	Hasta ve Kontrol Grubunun Bronko Alveoler Lavajda ELİSA Yöntemi ile İL-6, İL-8, İL-10 ve TNF- α Düzeylerinin Belirlenmesi	65
3.8.	<i>Sitokin</i> (İL-6, İL-8, İL-10 ve TNF- α) Genlerinde Otomatik DNA Dizi Analizi Yöntemi ile Polimorfizmin Araştırılması... Error! Bookmark not defined.	
3.8.1.	Gerekli Malzemeler.....	65
3.8.2.	Gerekli Solüsyonlar	Error! Bookmark not defined.
3.8.3.	Primerlerin Hazırlanışı	Error! Bookmark not defined.
3.8.4.	DNA Ekstraksiyonu.....	Error! Bookmark not defined.
4.	İSTATİSTİK	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
5.	BULGULAR.....	ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.
5.1.	Bronşektazili Olgularda ve Kontrol Grubunda Demografik Özellikler (Yaş, Cinsiyet, Meslek, Memleket, Eğitim Durumu)	Error! Bookmark not defined.
5.2.	Bronşektazili Olgularda ve Kontrol Grubunda Klinik Özellikler	65
5.3.	Bronşektazili Olgularda ve Kontrol Grubunda İnflamasyon Belirteç Düzeyleri.....	6Error! Bookmark not defined.
5.3.1	Bronşektazi Olgularında ve Kontrol Grubunda tam kan sayımı Profili ve Serumda Sedimentasyon ve CRP Düzeyleri Error! Bookmark not defined.	

5.3.2 Bronşektazi Olgularında ve Kontrol Grubunda Serumda İmmünglobulin ve Kompleman Düzeyleri Error! Bookmark not defined.

5.3.3 Bronşektazi Olgularında ve Kontrol Grubunda Serumda ve Bronko Alveoler Lavaj Sıvısında Sitokin (İL-6, İL-8, İL-10 ve TNF- α) Düzeyleri 70

5.4.1 İL-6, İL-8, İL-10 ve TNF- α Ekzonlarının Gösterilmesi..... Error! Bookmark not defined.1

5.4.2 Polimorfizm Sonuçlarının Gözlenmesi Error! Bookmark not defined.

5. TARTIŞMA ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....ERROR! BOOKMARK NOT DEFINED.

7. KAYNAKLAR 76

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Bronşektazi Tarihçesi.....	24
Tablo 2. Bronşektazide Epidemiyolojik tanımlamalar	Error! Bookmark not defined.
Tablo 3. Bronşektazinin Edinsel (Kazanılmış) Nedenleri	Error! Bookmark not defined.
Tablo 4. Bronşektazinin Kalıtsal (Hereditör) Nedenleri	Error! Bookmark not defined.
Tablo 5. Bronşektazinin Sınıflandırılması.....	Error! Bookmark not defined.
Tablo 6. Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinlerin kaynağı ve aktivitesi	
Tablo 7. Bronşektazide Tanısal Değerlendirme	
Tablo 8. Bronşektazinin Klinik Özellikleri.....	4
Tablo 9. Bronşektazinin Alevlenme Kriterleri	
Tablo 10. Bronşektazinin Akciğer Grafisi Bulguları	Error! Bookmark not defined.
Tablo 11. Bronşektazinin HRCT Bulguları.....	Error! Bookmark not defined.
Tablo 12. Bronşektazinin Mikrobiyolojik Özellikleri	Error! Bookmark not defined.
Tablo 13. Bronşektazinin ayırıcı tanısı	Error! Bookmark not defined.
Tablo 14. Bronşektazide Etiyolojiye Yönelik Tedavi	Error! Bookmark not defined.
Tablo 15: Çalışmamızda kullanılan sitokinlerin genlerine ait primerler....	Error! Bookmark not defined.
Tablo 16: Çalışmamızda bakılan sitokinlerin geninin promotor bölgesini çoğaltmak için uygulanan PCR karışımı.....	Error! Bookmark not defined.
Tablo 17: Primer çifti için uygulanan PCR programı	Error! Bookmark not defined.

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Normal bronş yapısı ve bronşektazi görünümü **Error! Bookmark not defined.**

Şekil 2: Bronş dallanması..... **Error! Bookmark not defined.**

Şekil 3: Olgularımızdan S.Ö.' ye ait bronkoskopik görünüm.

Şekil 4: Kartagener Sendromu bulunan bir hastaya ait radyolojik görünüm

Şekil 5: Reid'in yaptığı sınıflamada bronşektazinin 3 farklı görünümü

Şekil 6: Bronşektazinin histopatolojik görünümü.

Şekil 7: Sitokinler ve İnflamatuvar cevap oluşumu

Şekil 8: Bronşektazideki siliya hasarının patolojik görünümü:

Şekil 9: Enfeksiyon ve enflamasyondan sorumlu kan hücrelerinin oluşumu Şekil

10: İnsan interlökinin helix yapısı **Error!**

Bookmark not defined.

Şekil 11: İnflamatuvar cevapta rol alan sitokinler

Şekil 12: Hücresel immüitenin komponentleri **Error! Bookmark not defined.**

Şekil 13: Bağışıklık cevabında gözlenen 2 yol

Şekil: 14 Çomak parmak görünümü **Error! Bookmark not defined.**

Şekil-15 Bronşektazili hastalarımızdan A.Ç' a ait akciğer grafisi görünümü

Şekil-16 Bronşektazili hastalarımızdan A.Ç' a ait HRCT görünümü

Şekil 17: Çalışmamızda kullanılan GF-M3000 mikroparka okuyucusu

Şekil-18: Çalışmamızda kullanılan Nanodrop cihazı ile DNA ölçümü

Şekil-19: PCR Aşamaları

Şekil-20: Çalışmamızda kullanılan PCR cihazı

Şekil-21 Çalışmamızda kullandığımız DNA sekans analizatör cihazı

Şekil 22: Hasta ve kontrol grubunun Wbc, lökosit subgrupları (nötrofil, eozinofil, bazofil, lenfosit, monosit), ESR ve CRP düzeylerinin görünümü

Şekil 23: Hasta ve kontrol grubunun IgA, IgM, IgG, IgE düzeylerinin görünümü

Şekil 24: Hasta ve kontrol grubunun Kompleman (C3b ve C4) düzeylerinin görünümü

Şekil 25: Hasta ve kontrol grubunun Proinflamatuvar Sitokin (İL-6, İL-8, TNF- α) ve Antiinflamatuvar sitokinlerin (İL-10) Serum Düzeylerinin görünümü

Şekil 26: Hasta ve kontrol grubunun Proinflamatuvar Sitokin (İL-6, İL-8, TNF- α) ve Antiinflamatuvar sitokinlerin (İL-10) BAL Sıvısı Düzeylerinin Görünümü

Şekil 27: İL-6' a ait hasta ve kontrol grubunun jel elektroforez görüntüleri. İL-6 5' uç bölgesinin primerleri kullanılarak elde edilen 114 bp uzunluğundaki PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görünümü

Şekil 28: IL-6' nın -174 G / C polimorfizminin Genotipleme. Üç farklı genotiplinin bir revers primer kullanılarak elde edilen PCR-amplifiye ürünün dizi analizi yöntemi ile gösterilmesi.

Şekil 29: İL-8' e ait hasta ve kontrol grubunun jel elektroforez görüntüleri. İL-8 5' uç bölgesinin primerleri kullanılarak elde edilen 240 bp uzunluğundaki PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görünümü

Şekil 30: IL-8' in -161 C/A polimorfizminin genotipleme. iki farklı genotiplinin bir revers primer kullanılarak elde edilen PCR-amplifiye ürünün dizi analizi yöntemi ile gösterilmesi.

Şekil 31: IL-8' in -251 A/T polimorfizminin genotiplemeesi. Üç farklı genotipinin bir revers primer kullanılarak elde edilen PCR-amplifiye ürününün dizi analizi yöntemi ile gösterilmesi.

Şekil 32: IL-10' a ait hasta ve kontrol grubunun jel elektroforez görüntüleri. IL-10 5' uç bölgesinin primerleri kullanılarak elde edilen 588 bp uzunlğundaki PZR ürünlerinin agaroz jeldeki görünümü

Şekil 33: IL-10' un -592 C/A polimorfizminin genotiplemeesi. Üç farklı genotipinin bir revers primer kullanılarak elde edilen PCR-amplifiye ürününün dizi analizi yöntemi ile gösterilmesi

Şekil 34: IL-10' un -819 C/T polimorfizminin genotiplemeesi. Üç farklı genotipinin bir revers primer kullanılarak elde edilen PCR-amplifiye ürününün dizi analizi yöntemi ile gösterilmesi

Şekil 35: IL-10' un -1082 G/A polimorfizminin genotiplemeesi. Üç farklı genotipinin bir revers primer kullanılarak elde edilen PCR-amplifiye ürününün dizi analizi yöntemi ile gösterilmesi

Şekil 36: TNF- α ' e ait hasta ve kontrol grubunun jel elektroforez görüntüleri. TNF- α 5' uç bölgesinin primerleri kullanılarak elde edilen 328 bp uzunlğundaki PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görünümü

Şekil 37: TNF- α ' nın -308G/A polimorfizminin genotiplemeesi. İki farklı genotipinin bir revers primer kullanılarak elde edilen PCR-amplifiye ürününün dizi analizi yöntemi ile gösterilmesi

Şekil 38: TNF- α ' nın -238G/A polimorfizminin genotiplemeesi. İki farklı genotipinin bir revers primer kullanılarak elde edilen PCR-amplifiye ürününün dizi analizi yöntemi ile gösterilmesi

SİMGELER VE KISALTMALAR

ng : Nanogram
pg : Pikogram
ml : Mililitre
µlt : Mikrolitre
p : Probality (Olasılık)
f : Frekans
r : Korelasyon katsayısı
\$: Dolar

AAT: Alfa-1 Antitripsin
ABD : Amerika Birleşik Devletleri
ABPA: Allerjik Bronko Pulmoner Aspergillozis
A: Adenin
BAL: Bronko Alveoler Lavaj
BE: Bronşektazi
BT : Bilgisayarlı Tomografi
C: Sitozin
CRP : C-Reaktif Protein
EDTA : Etilen diamin tetra asetik asid
G: Guanin
HRCT: High Resolution Computerize Tomografi
Th : T helper
Th1: T helper 1
Th2: T helper 2
TNF-α : Tümör Nekroz Faktör Alfa
Ig : İmmunglobulin
IL: İnterlökin

İL-6 : İnterlökin- 6
İL-8 : İnterlökin- 8
İL-10 : İnterlökin-10
IgA: İmmunglobulin A
IgE: İmmunglobulin E
IgG: İmmunglobulin G
IgM: İmmunglobulin M
KF: Kistik fibrozis
ELISA : Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
PZR : Polimeraz Zincir Reaksiyonu
DNA : Deoksiribonükleik asit
YÇBT: Yüksek Çözünürlüklü Bilgisayarlı Tomografi
T : Timin
Tm: Sıcaklık
FWD: Forward primer
REW: Revers primer
MHC : Major Histocompatibility Complex
NK : Naturel Killer
NF-κB: Nüklear faktör kappa B

1- GİRİŞ

Bronşektazi, bronş duvarının elastik doku, kıkırdak dokusu ve muskuler yapılarının bozulması sonucu, 2 mm' nin üzerinde orta büyüklükteki proksimal bronşların anormal ve kalıcı dilatasyonudur. Bronşektazi, antibiyotiklerin ortaya çıkıp yaygınlaştığı dönemlerden önce her yaş grubunun hastalığı ve günümüze göre çok daha sık saptanmakta idi. Birçok etkili antibiyotiklerin bulunduğu günümüzde ise bronşektazi, daha çok çocukluk döneminde görülen bir patoloji olmuştur. Gelişmekte olan ülkelerin problemi olduğu gibi halen ülkemizde de özellikle çocukluk döneminde alt solunum yolu enfeksiyonlarının etkin tedavi edilememesi nedeni ile bronşektazi önemli mortalite ve morbidite nedenidir (1,2).

Bronşların kalıtsal veya edinsel herhangi bir nedenle obstrüksiyonu sonucu o bölgede mikroorganizmaların kolonize olması sonucu mikroorganizmanın patojenitesi ile hastanın immünitesi arasındaki dengenin bozulması, bronş duvarında kalıcı harabiyet gelişmesi ve hastada bronşektazi gelişmesi ile sonuçlanmaktadır. Son yıllarda antibiyotiklerin yoğun olarak kullanılması ile bu denge konakçı lehine değişmektedir (6).

İnflamasyonun gösterilmesi devam etmekte olan bronşektazi tanısını desteklemekle kalmayacak; patolojik fenotipin belirlenmesinde ve devam eden inflamasyona yönelik tedavi başlanması ile tedavinin monitörizasyonunda da yol gösterici olacaktır. İnvazif ölçümlerde; bronşektazinin etyolojik nedenini ortaya koyabilecek endobronsiyal biyopsi ile birlikte bronkoskopi ve bronko-alveoler lavaj (BAL) altın standart olduğu düşünülmektedir; ancak serumda inflamasyonun gösterilmesi daha kolaydır ve yinelenen ölçümler yapılabilir.

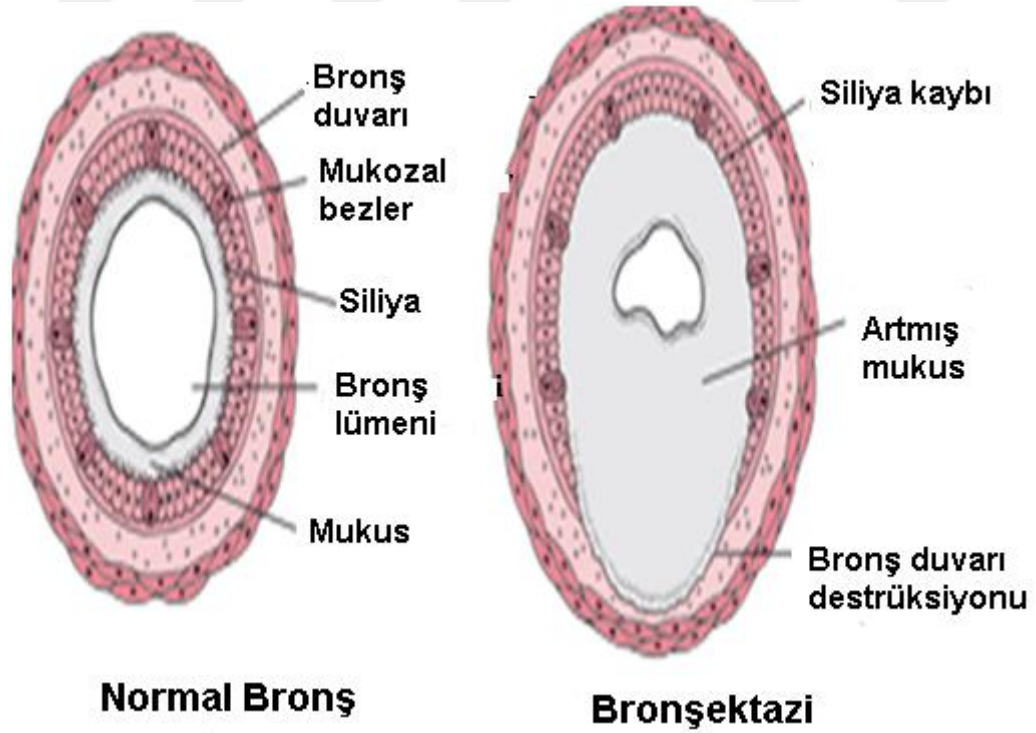
İmmün patolojideki gelişmelere ve immüno-modulator gen polimorfizmi ile ilgili yapılan çalışmalara bakıldığında; kronik inflamatuvar hastalıklarda sitokin seviyeleri ile kronik inflamatuvar hastalığa duyarlılığın genotipik özelliğinin ya da çeşitli sitokin gen varyantlarının ilişkili olduğunu göstermiştir.

Sitokin gen polimorfizminin olması sitokin seviyelerini etkileyebilir ve bu durum bronşektaziye duyarlılıkla ilişkili olabilir.

Bu çalışmada bronşektazili hastaların takibi ve tedavisi açısından önemli olabileceğini düşündüğümüz sistemik ve pulmoner inflamasyon belirteçleri olan proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokin seviyelerini belirlemeyi ve bu sitokinlerin sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılık olup olmadığını ve bu inflamatuvar sitokinlerin gen polimorfizmine otomatik dizi analizi yöntemi ile bakarak genetik yatkınlık ile ilişkisinin olup olmadığını saptamayı planladık.

GENEL BİLGİLER

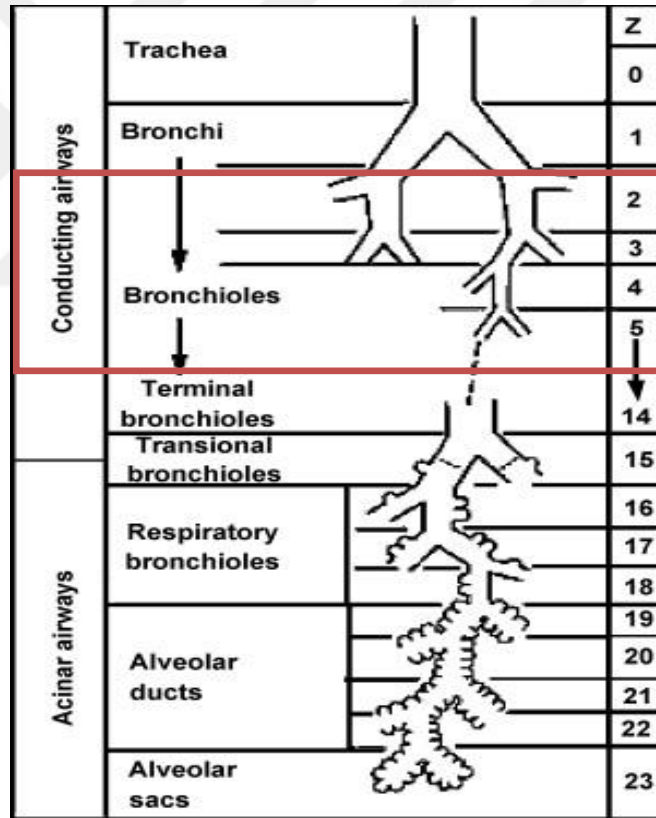
1.1. Bronşektazinin tanımı



Şekil-1: Normal bronş yapısı ve bronşektazi görünümü (102)

Bronşektazi yunanca kökenli bir terim olup, nefes borusu anlamına gelen "bronchion" ve dış anlamına gelen "ek" ve dışa doğru çekilme anlamına gelen "tasis" kelimelerinin birleşmesinden oluşmaktadır (1).

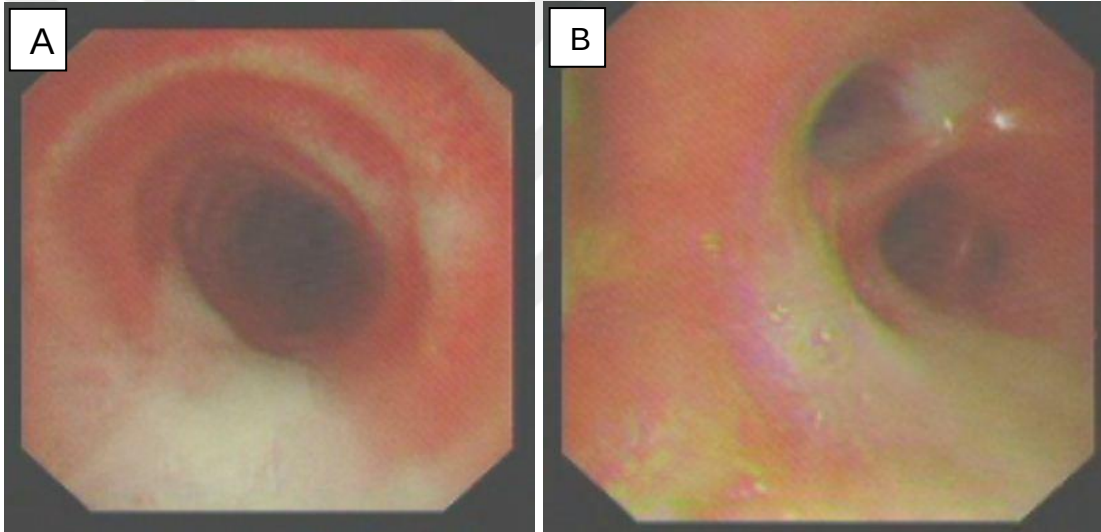
Bronşektazi morfolojik terim olarak (brontos, airways; ectasia, dilatation), bronş yada hava yollarının genişlemesi olup anormal, geri dönüşümsüz, genellikle duvarları kalınlaşmış bronşları tanımlamak için kullanılır. Bu anatomik bir tanımdır. Genişlemiş bronş duvarında inflamasyonla beraber elastik, kas ve kıkırdak yapılarında harabiyet mevcuttur (şekil-1). Bronşlar bazı durumlarda (pnömoni veya trakeobronşiti takiben) geçici olarak genişleyip haftalar hatta aylar sonra normal boyutlarına dönebilmektedir ancak bu durum "bronşektazi" için geçerli değildir (2).



Şekil-2 Bronş dallanması (3),

Bronşektazide genişleyen 2.-6. dallanmalar arasında kalan, 2 mm'den kalın proksimal bronşlardır (şekil-2). Bronşektazide sabahları olan bol miktarda bazen kötü kokulu olabilen balgam çıkarma, kronik öksürük ve hırıltılı solunum semptomları olabilir

Bronşektazide; havayolu mukus klirensi azalmış olup, enfekte havayolu sekresyonlarının temizlenmesinde yavaşlama ve bu enfekte sekresyonların hava yollarında birikmesi sonucunda havayolunun yapısal bütünlüğünün bozulması ile birlikte lokal veya diffüz havayolu dilatasyonu ve harabiyeti söz konusudur. Bronşektazide özellikle sabahları olan bol miktarda ve bazen kötü kokulu olabilen balgam çıkarma ve kronik öksürük, hırıltılı solunum şikayetleri ve tekrarlayan alt solunum yolu enfeksiyonu ile karakterize bir süpüratif akciğer hastalığıdır (şekil-3) (2,4). Bu hastalarda enfeksiyon nedeni ile alevlenmeler olduğunda ateş, halsizlik, iştahsızlık ve enfeksiyonun diğer semptomları da tabloya eklenebilmektedir (2).



Şekil-3 Olgularımızdan S.Ö.' ye ait bronkoskopik görünüm. A: Trakeada mukoid nitelikte sekresyon, B: Sağ akciğer alt lobda mukoid nitelikte sekresyon izlenmektedir.

Antibiyotik çağından önce akciğer hastalıkları arasında bronşektazi en önemli ölüm sebeplerinden biri olup bronşektaziye bağlı ölümler 40 yaşın altında idi. Antibiyotik kullanıma girdikten sonraki yıllarda aşılama kampanyaları ve antibiyotiklerin yaygın kullanım sonucu çocukluk çağı hastalıklarında belirgin şekilde bir azalma olmuştur. Bunun sonucu olarak bronşektazi sıklığı azalmış ve bronşektazinin prognozu eskiye göre düzelmiştir. Ancak günümüzde koruyucu sağlık ve tedavi hizmetlerinin yeterli olmadığı ülkemizin de içinde bulunduğu gelişmekte olan ülkelerde bronşektazi halen ciddi bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir (4).

2.2 Bronşektazinin Tarihçesi

Bronşektazi ilk kez 1819 yılında Laennec tarafından tanımlanmıştır. Laennec boğmaca nedeniyle kaybedilmiş 3 yaşındaki bir çocuğun akciğerlerinin postmortem kesitlerinde bronşektaziyi tarif etmiştir. Rene Theophile Hyacinthe Laennec (1781-1826), Fransız bir doktor olup 1816 yılında steteskobu icat etmiştir. Bu yeni enstrüman kullanılarak kalp ve akciğer sesleri incelenmiş ve bu kalp ve akciğer seslerinin dinlenmesi ile belirlenen tanılar otopsi sırasında yapılan gözlemler ile belirlenen tanılar desteklemiştir. Laennec göğüs fizik muayenesini bir sanat haline getirmiş ve ozaman tanımlanan birçok klinik terimler bugün halen kullanılmaktadır. 1846 yılında ise bu tanımlamalar Hasse tarafından "bronşektazi" olarak adlandırılmıştır (5).

Bronşektazi tarihinde diğer önemli gelişmeler; hava yollarındaki destrüktif değişikliklerin net görüntülenmesini sağlayan kontrastlı (lipiodol) bronkografinin 1922 yılında Jean Athanase Sicard tarafından bulunması ve kullanılmasıdır. Güncel hayatta bronşektazinin morfolojik tanısına bronkografi ile öncülük etmiştir (7,8). 1950' li yıllarda Lynne Reid, bronşektazili hastalarda bronkografi görünümü ile bağlantılı olarak patolojik piyesleri incelemiş ve bronkografi bulguları ile patolojik bulgular arasındaki korelasyonu tanımlamış ve bronşektazileri; silindirik, variköz, ve kistik olarak sınıflamış (7). Böylece bronşektazinin kesin tanısında radyolojik görünüm de kullanılmıştır. (6,9).

Daha sonra 1982 yılında Naidich ve arkadaşları tarafından bronkografiden daha az invazif olan Bilgisayarlı Tomografi (BT) görünümü ile bronşektazinin teşhis edilebileceği gösterilmiştir. 1986 yılında Grenier ve arkadaşları tarafından bronşektazi tanısında spesifitesi ve sensitivitesi yüksek olan Yüksek Çözünürlüklü Bilgisayarlı tomografi (YÇBT) kullanılmıştır. Bronşektazi tanısında YÇBT altın standart tanı yöntemi olarak günümüzde de halen kullanılmaktadır (10,11). Bronkografik incelemeler terkedilmiş olup YÇBT hem hastalığın teşhisinde hem de takibinde sıklıkla kullanılmaktadır.

1819	İlk kez Laennec tarafından tanımlandı
------	---------------------------------------

1846	Hasse tarafından "bronşektazi" olarak adlandırıldı
1922	Jean Athanase Sicard tarafından kontrastlı bronkografi bulundu
1950	Lynne Reid tarafından bronşektazinin sınıflandırılması yapıldı
1982	Naidich ve arkadaşları tarafından Bilgisayarlı Tomografi (BT) görünümü ile bronşektazinin teşhis edilebileceği gösterildi
1986	Grenier ve arkadaşları tarafından bronşektazi tanısında spesifitesi ve sensitivitesi yüksek olan YÇBT kullanıldı

Tablo-1 Bronşektazinin Tarihçesi

2.3 Bronşektazinin Epidemiyolojisi

İnsidans (hız)	Herhangi bir hastalık için yeni vaka sayısını gösterir, belirli bir zaman aralığında ortaya çıkan yeni vakaların genel nüfusun sayısına bölünmesi ile hesaplanır
Prevelans (oran)	Belirlenmiş bir zamandaki veya andaki eski ve yeni vakaların toplamının genel nüfusun sayısına bölünmesi ile hesaplanır

Tablo-2 Bronşektazide epidemiyolojik tanımlamalar; İnsidans, Prevalans (12).

2.3.1 Dünyada Bronşektazi Epidemiyolojisi

Gelişmekte olan ülkelerde yaklaşık her 10.000 kişide 10-50 bronşektazi hastasına rastlanmakla birlikte insidans ve prevalansı hakkında çok sağlıklı bilgiler yoktur. Gelişmiş ülkelerde sıklığı azalmaktadır (2). Yüksek Çözünürlüklü Bilgisayarlı Tomografinin yaygın olarak kullanılması ile birlikte bronşektazinin solunum sistemi hastalıklarının önemli ve sık görülen bir nedeni olduğu ortaya çıkmıştır. ABD İstatistiklerine bakıldığında; ABD’ de en az 110.000 yetişkin insanda bronşektazi tanısı olduğu tahmin edilmektedir (13). Ancak son kanıtlar, bronşektazinin orantısız bir şekilde kadın ve yaşlı kişileri etkilediğini ve bunun da giderek artan bir sağlık yüküne neden olabileceğini göstermiştir. ABD’ de 5,6 milyon hasta üzerinde retrospektif kohort olarak yapılan son ankette; 75 yaş üzerindeki 100.000 kişide 271,8 prevalans ile, 100.000 yetişkin başına 52,3 olgu prevalansı tahmin edilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri’ ndeki yıllık sağlık harcamaları 630.000.000 \$ olup bu da

bronşektazi için tedavi gören 110.000 kişiden fazla kişiye karşılık gelmektedir (13).

1993'ten 2006 yılına kadar Amerika Birleşik Devletleri'nde hastaneye yatırılan hastalarda yapılan bir ankette; bronşektazi ile ilişkili hastaneye yatışların % 63' nün kadınlarda meydana geldiğini ve % 70' nin 65 yaş üzerindeki hastalar olduğunu göstermiştir. Bronşektazi tanısı ile hastaneye yatışlarda, yıllık ortalama artış erkeklerde % 2.4 oranında ve kadınlarda % 3.0 olup yaşa göre düzeltilmiş orana bakıldığında belirgin bir artış olmuştur (17). Birleşik Krallık'ta, bronşektaziye bağlı ölümler yılda 1000 kişi olarak bildirilmiş. 2001 ile 2007 yılları arasında ölüm oranında yılda % 3' lük artış olmakla birlikte özellikle artan yaş ile bronşektazi prevalansı artış göstermekte olup bronşektazi halk sağlığı yükünü arttırmıştır (18).

Genel bir algı olarak bu artış oranları, yüksek çözünürlüklü bilgisayarlı tomografinin (YÇBT) bronşektazi tanısında giderek daha yaygın kullanımını yansıtıyor olmakla birlikte bronşektazi artık nadir görülen bir durum değildir. Buna karşılık 2008 yılında bir grup araştırmacı tarafından "Bronşektazi Araştırma Kayıt Defteri" ile başlatılan ve Amerika Birleşik Devletleri'nde Non-CF bronşektazinin prevalansı ve tanınmasını arttırmak için çok merkezli bir konsorsiyum başlatılmıştır (19).

2.3.2 Türkiye' de Bronşektazi Epidemiyolojisi

Dünyanın birçok bölgesinde olduğu gibi ülkemizde de bronşektazinin gerçek prevalansı ve kesin insidansı bilinmemektedir. Bronşektazi antibiyotik çağından önce sık görülen ve önemli bir hastalıktı. Boğmaca ve kızamık başta olmak üzere yaygın aşılama programlarının uygulanması, tüberküloz sıklığının azalması ve pnömoni tedavisinde antibiyotik kullanımı sonucu gelişmiş ülkelerde bronşektazi görülme sıklığı azalmakta iken, gelişmekte olan ülkelerde gerek etkin aşılama yapılamaması gerekse tekrarlayan çocukluk çağı ciddi solunum yolu hastalıkları, iyi tedavi edilemeyen süpüratif alt solunum yolu enfeksiyonları ve yüksek akciğer tüberkülozu prevalansı nedeniyle halen yaygın bir hastalık olarak görülmektedir (2, 3). Ülkemizin de içinde olduğu gelişmekte olan ülkelerde enfeksiyonlar kontrol altına alınamadığı için

postenfeksiyöz bronşektazi başta olmak üzere bronşektazi sıklıkla karşımıza çıkmaktadır (26).

Bizim ülkemizde erkeklerde, kadınlara oranla daha sık bronşektazi gözlenmektedir. Özdemir ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bronşektazili hastaların %62,3'ünün erkek, %37,7'sinin ise kadın olduğu bildirilmiş (20).

Bronşektazi prevalansı ve genetik yapı ile ilişkili çalışmalara bakıldığında; Türkiye'de akraba evliliğinin yaygın olması nedeniyle bronşektazinin genetik hastalıklarla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. TAP eksikliği sendromu, tekrarlayan bakteriyel alt solunum yolu enfeksiyonları ile karakterizedir. Çalışmanın sonuçları, bronşektazi gelişiminde TAP gen polimorfizminin rolü olabileceğini göstermiştir (22). 2005 yılında B. Karadağ ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, 1987-2001 yılları arasında 111 bronşektazili çocuk çalışmaya alınmış ve %50,5' i erkek, Ortalama yaş: $7,4 \pm 3,7$, ilk solunum yakınmalarının görüldüğü yaş: $2,5 \pm 2,7$, post-infeksiyöz: %29,7 olup akraba evliliği yüksek olup birinci ve ikinci derece akrabalık oranı %42,6 olarak saptanmış (25).

2.4 Bronşektazinin Etiyolojisi

Bronşektazinin etyolojik faktörlere göre sınıflaması çocuklarda görülenler daha çok kistik fibrozis nedeni ile ortaya çıkarken erişkinlerde görülenler ise daha çok Non-kistik fibrozis bronşektazi olarak adlandırılmaktadır (21).

Bronşektazinin etyolojik faktörleri, fokal veya diffüz hastalık oluşturmalarına göre de ikiye ayrılır.

Fokal bronşektaziler; yabancı cisim aspire edilmesi ve hava yollarında bronşiolit, koyulaşmış mukus tıkaçı nedeniyle obstrüksiyon oluşumu, çevredeki patolojik olsun olmasın büyümüş olan lenf nodunun bronşlara bası yapması veya tümörün basısı (Hamartom, adenom, fibrom, kondrom, karsinom) ile lokal olarak bronş obstrüksiyonuna bağlı olarak oluşur (6).

Diffüz bronşektaziler ise; erken çocukluk döneminde veya sonrasında geçirilmiş yaygın yerleşim gösteren pnömoniler, kronik granülamatöz hastalıklar, belirli romatolojik hastalıklar, aşırı duyarlılık hastalıkları, immün

yetmezlik hastalıkları ve bazı genetik durumlar, anatomik yada fonksiyonel anormallik sendromları olan kişilerde görülebilir (2,6,23).

Bronşektazi çoğunlukla çocuklukta geçirilen nekrotizan bir enfeksiyon yada sık geçirilen ve ağır enfeksiyonlar sonucunda edinsel bir bozukluk olarak ortaya çıksa da, nadiren konjenital gelişimsel bir anomali ya da kalıtsal ultrastrüktürel veya metabolik defektler veya immün yetmezlik sendromları sonucunda da oluşabilir (4,24).

2.4.1 Bronşektazinin Edinsel (Kazanılmış) Nedenleri

2.4.1.1 Enfeksiyonlar

Bronşektazinin en önemli nedeni, trakeobronşiyal sistemin duvar yapısında ve çevresindeki akciğer parankiminde oluşan tekrarlayan ve nekrotizan özellikli olan enfeksiyonlardır. Günümüzde, gelişmiş ülkelerde çocukluk çağı solunum yolu enfeksiyonlarına bağlı bronşektaziler azalıyorsa da, gelişmekte olan toplumlarda postenfeksiyöz hasarlanma bronşektazi gelişiminde halen önemli bir sağlık sorunudur (6). Bakteriyel pulmoner enfeksiyonlar, bronşektazi gelişimine zemin hazırlayan bakteriyel pnömoni ve nekrotizan pnömoni oluşturan etkenler ve bu etyolojiler arasında; adenovirus, herpes virüs, kızamık ve kabakulak virüsleri gibi viral etkenler ve Bordetella pertussis (boğmaca), Klebsiella pneumonia, Staph. aureus, Pseudomonas aeruginosa ve anaerob bakteriler gibi bakteriyel etkenler bildirilmiştir. (24).

Kızamık enfeksiyonu nedeni ile oluşan pnömonilerdeki peribronşiyal inflamasyon ve bronşial, bronşioler epitelde proliferasyon, akut bronş hasarı ve bronşektazi gelişiminden sorumludur. Bu enfeksiyonlardan iyileşen çocuklarda bronşiyal hasar ve bronşektazi gelişmektedir. Bronşektazi gelişiminde en önemli sekonder nekrotizan bakteriyel pnömoni nedeni boğmaca enfeksiyonudur. Boğmacanın kendisi de nekrotizan bronşit yapabilir. Boğmaca sonrası oluşan akciğer enfeksiyonunda koyu kıvamlı mukus tıkaçları periferik yerleşimli küçük atelektazi alanlarına ve bronşektazi gelişimine katkıda bulunur. Adenovirüsler, nekrotizan bronşite neden olabilmekte ve çocuklar özellikle de tip 1,3,4,7,21 serotipleri diğer tiplerine göre daha

virülandır. Adenovirus tip 7 nedeniyle pnömoni geçiren 22 çocukta 10 yıl sonra % 25'inden fazlasında bronşektazi geliştiği saptanmıştır (24).

Tüberküloza bağlı bronşektazinin patogeneğinde inflamasyon, nekroz, fibrozis ile daralma ve distalde mikst enfeksiyonlar rol oynar ve özellikle üst loblar tutulduğunda bronş duvarında belirgin kazeifikasyon nekrozu ve tüberküloz bronşitinin ilerlemesi sonucunda bronşektazi gelişebilir. Ayrıca tüberkülozda tutulan büyük bronşların skarlaşması bronşta daralmaya neden olabilir ve bronşiyal obstrüksiyona sekonder enfeksiyonlar bronşektazi gelişimine zemin hazırlayabilir. Tüberkülozda hiler lenfadenopatinin bronşlara basısına bağlı obstrüksiyon bronşektazi gelişimine neden olabilir (21).

Mikotik enfeksiyonlar; bronşektaziye zemin hazırlayan primer pulmoner Mantar enfeksiyonu için en iyi örnek pulmoner histoplazmozisdir. Hiler lenfadenopati, bronş obstrüksiyonu ve sekonder bakteriyel enflamasyon bronş duvarında ektaziye neden olur (24). AIDS' te görülen bronşektazi tekrarlayan alt solunum yolu enfeksiyonu ile bozulmuş konakçı savunması arasındaki artmış destrüktif ilişki ile açıklanabilir (6).

2.4.1.2 Allerjik Bronkopulmoner Aspergillozis (ABPA)

Bronkospazm, bronşektazi, solunum sistemi salgılarında Aspergillus türlerinin (en sık A. Fumigatus) varlığı ve aspergillus karşı allerji ile karakterizedir. ABPA fizyopatolojisinde trakeobronşiyal sistemdeki inhale edilen antijene karşı hipersensitivite reaksiyonu vardır. Hava yollarında Aspergillus hifaları içeren koyu kıvamlı sekresyonların tıkaç oluşturması sonucunda bronşektazi gelişebilir (24). ABPA hastalarının çoğunda tanı esnasında diffüz variköz veya kistik bronşektazi ya da vardır. Bronşiyal bozukluklar tip III immün kompleks reaksiyonu sonucunda daha santraldeki hava yollarında bronşektazi oluşur (6). Bronkospazmdan IgE aracılıklı tip I hipersensitivite reaksiyonunun bronşiyal ve peribronşiyal inflamasyondan immün kompleks aracılıklı tip III reaksiyonunun sorumlu olduğu düşünülmektedir. Genellikle proksimal bronşektazidir (24).

2.4.1.3 Bronş obstrüksiyonu

Her iki şekilde de (endobronşiyal lezyon olması nedeniyle veya bronşa dıştan bası olması nedeniyle) gelişen bronşun obstrüksiyonu bronşektazi gelişimine yol açabilir.

- Neoplazmlar (karsinoid tümör)
- Yabancı cisim aspirasyonu
- Tüberküloz ve sarkoidoz gibi hiler lenfadenopati ile seyreden hastalıklar
- Mukoid tıkaç (postoperatif mukus tıkaçı)
- Edinsel Trakeobronşiyal hastalıklar (Tekrarlayan polikondritis, amiloidozis)
- Astım ve kronik bronşit gibi obstrüktif akciğer hastalıkları

2.4.1.4 İmmünite ile ilişkili bozukluklar

Romatoid artrit (RA), Sjögren sendromu gibi romatolojik hastalıklarda ve sistemik lupus eritematozis (SLE) gibi otoimmün hastalıklarda bronşektazi görülme sıklığı yüksek olarak bildirilmiştir. Bronşektazi belirgin olduğunda artropati ve sikka özellikleri genellikle ilerlemiştir. İnflamatuvar barsak hastalığı (kronik ülseratif kolit veya Crohn hastalığı) olanlarda bronşektazi gelişebilir. Kronik granülomatöz hastalık (nötrofillerin oksijen bağımlı mikrobisidal aktivite defekti), lökosit adezyon defekti gibi edinsel immün yetmezlik durumlarında da bronşektazi gelişebilir (6).

Çocukluk çağında geçirilen enfeksiyonlar ve enfeksiyon sonrası komplikasyonlar (alt solunum yolu enfeksiyonları, pnömoni veya bronşiyolitler)	Bakteri (Boğmaca, Kabakulak, Kızamık, S. Aureus, H. İnflüenza, Klebsiella, mikoplazma enfeksiyonları, M. tuberculosis ve tüberküloz dışı atipik mikobakteriler)
	Virus (kızamık, adenovirus, influenza, HIV, herpes simplex virüs enfeksiyonları ve diğer viral bronşiyolit nedenleri)
	Mantar (Aspergillus; Allerjik Bronkopulmoner Aspergilloz; ABPA)

Bronş obstrüksiyonu yapan nedenler (bronş stenozu veya dıştan bası olması)	Neoplazmlar (karsinoid tümör)
	Yabancı cisim aspirasyonu
	Tüberküloz ve sarkoidoz gibi hiler lenfadenopati ile seyreden hastalıklar
	Mukoid tıkaç (postop. mukus tıkaçı, Allerjik Bronkopulmoner Aspergillozis)
	Edinsel Trakeobronşiyal hastalıklar (Tekrarlayan polikondritis, amiloidozis)
	Astım ve kronik bronşit gibi obstrüktif akciğer hastalıkları
İmmünite ile ilişkili bozukluklar	Akciğer allograft rejeksiyonu
	KİT sonrası graft versus host hast.
	Romatoid artrit
	Sjögren sendromu
	İnflamatuvar barsak hast. (Ülseratif kolit ve Crohn hastalığı)
Diğer Nedenler	Aspirasyon (tekrarlayan aspirasyon pnömonileri, alkolizm, nörolojik bozukluklar, gastroözofagial reflü)
	İnhalasyon hasarı; toksik madde inhalasyonu, termal hasar, İnhaler toksik irritanlar (sigara, talk, silikatlar, deterjanlar, nitrojen dioksit vb)
	SLE gibi kollagen doku hast.
	Sarkoidoz
	Transplantasyon sonrası Bronşiyolit
	Obliterans

Tablo-3; Bronşektazinin Edinsel (Kazanılmış) Nedenleri (10)

2.4.2 Bronşektazinin Kalıtsal (Hereditör) Nedenleri

2.4.2.1 Kalıtsal Patolojiler

Bazı genetik defektler bronşektazinin belirgin olduğu klinik sendromlar ile birlikte dir.

Kistik fibrozis; 7. Kromozomda lokalize olan ve kistik fibrozis transmembran regülatör proteinini (CFTR) kodlayan gende (Δ F508) defekt sonucunda meydana gelen otozomal resesif (OR) geçişli bir hastalıktır. CFTR geninde 200' den fazla mutasyon tanımlanmış. Ekrin ve ekzokrin salgı bezlerinin hastalığı olup kronik akciğer hastalığı ve pankreas yetmezliği ile seyreder. CFTR genindeki defekt sonucu hava yolu mukozsı epitelinin apikal membranında sodyum ve klor transferi bozulur ve hava yollarında aşırı vizküz mukus oluşur. Özellikle pseudomonas aeruginosa ve Staph. aureus ve H. İnflüenza gibi bakterilerin invazyonu sonucunda nötrofilik inflamasyon süreci başlar. Bu kronik süpüratif inflamasyon süreci kalıcı akciğer hasarına neden olarak bronşektazi gelişimi ile sonuçlanır. Tanısında ter testi yapılır ve yüksek ter sodyum ve klor konsantrasyonun gösterilmesi tanıda yardımcıdır. Kesin tanı için genetik çalışmalar yapılmaktadır. Erişkinlerde kistik fibrozisin atipik formları görülebildiği bildirilmiş ancak düşük oranda olduğu belirtilmiştir (1,2,3,24).

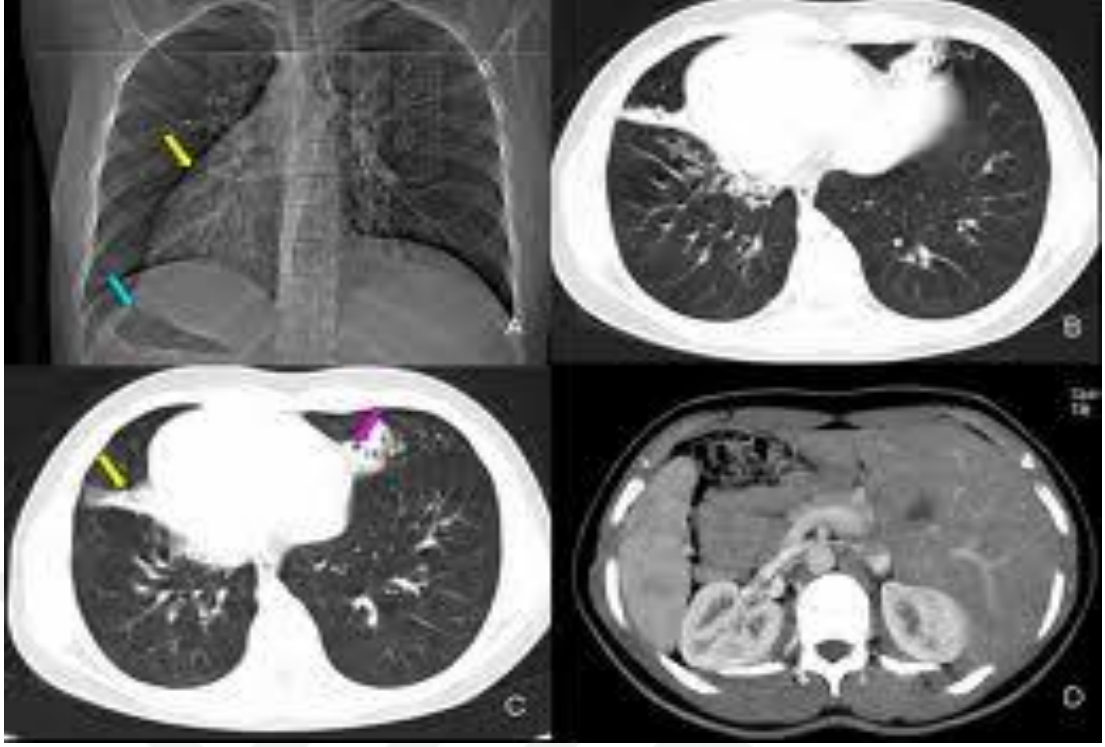
Alfa-1 antitripsin (AAT) eksikliği; serum proteaz inhibitörü olan AAT eksikliğinde panlobüler amfizemin yanı sıra hırıltılı solunum, hava yolu reaktivitesi, kronik öksürük, balgam oluşumu, bronş duvarı kalınlaşması ve bronşektazi oluşabilir. Enfeksiyon ve inflamasyon sırasında akciğeri proteaz aktivitesine karşı serum proteaz inhibitörü olan AAT korur. Bu koruyucu sistemin eksikliğinde ise, parankim ve hava yollarında hasarlar oluşur. (1,24).

Siliyer defektler; immotil siliya sendromları; İmmotil siliya sendromu ismi genelde siliyalar hareketli olduğundan terkedilmiştir. Bazı hastalarda siliyalarda kısmi bir hareket görüldüğünden bazı araştırmacılar diskinetik siliya sendromu veya anormal siliya sendromu olarak da adlandırmaktadır. Siliyanın yapısında ve fonksiyonunda bozukluk vardır. Siliyalı mukoza biyopsisinin ve ejakulattaki spermilerin elektronmikroskopik incelemesi ile siliyer aksonemde bazı spesifik defektler ortaya konmuştur. Bu defektler dynein kollarının

yokluğu, kısa dynein kolları, kısa radial spok' lar, santral mikrotubuli yokluğu, periferik mikrotubuli çiftinden çiftinden birinin santral transpozisyona geçmesi nexin bağlarının yokluğu şekilleri ile karşımıza çıkabilir. Hava yollarındaki ve diğer silialı epitelde ve spermatozoada motilite yokluğu veya motilite azlığı sonucu infertilite ile seyreden ve mukosilyer klirensde bozulma sonucu solunum sistemi enfeksiyonu sıklığında artma ile giden genetik bir sendromdur (1,2,24).

Primer siliyer diskinezi, siliyer aktivitenin diskinezisi veya yokluğu nedeniyle oluşan mukosilyer transport bozukluğuna bağlı olarak, tekrarlayan sinopulmoner enfeksiyon, östaki tüpü disfonksiyonu, sperm motilitesinin kaybı olarak kendini göstermektedir. Primer siliyer diskinezili olguların yaklaşık % 50'sinde olaya situs inversus eşlik eder ki bu Kartagener Sendromu olarak adlandırılır (1,2,24).

Kartagener sendromu; bu sendrom immotil silia sendromunun bir alt tipi olarak karşımıza çıkar. Bronşektazi, kronik sinüzit ve situs inversus triadı ile karakterize OR geçişli bir hastalıktır. Siliyer disfonksiyonu olan olguların % 50' sinde kartagener sendromu görülebilir. Bu sendromdaki siliyer defekt özellikle dynein kollarının yokluğu şeklindedir. Dynein kolları siliyanın hareketi için gerekli olan ATPaz aktivitesinin büyük kısmını içerir. Siliyer motilite bozukluğu mukosilyer klirensde bozukluğa ve bu da diffüz bronşektazi ve sinüzite yol açar (24).



Şekil-4: Kartagener Sendromu bulunan bir hastaya ait radyolojik görünüm (103)

Young sendromu; koyu yapışkan mukus, mukosilyer klirensde bozulma ve buna bağlı olarak gelişen kronik sinopulmoner enfeksiyon ve normal spermatogenez ile obstrüktif azospermi ile karakterizedir. Ultrastrüktürel siliyer anormalliklerin olmamasıyla siliyer diskinezi sendromlarından, aile öyküsünün yokluğu, ter testinin ve pankreas enzimlerinin normal olmasıyla kistik fibrozisten ayrılır (1,24).

2.4.2.2 Konjenital Anatomik Defektler

Bronkomalazi, bronşiyal kartilaj yetersizliği (Williams-Campbell Sendromu); nadir görülen bu konjenital sendromda bronş duvarı kıkırdığı defektif ya da eksiktir. Olgular bronşektazinin klinik özelliklerini gösterir (1,2,24).

Mounier- Kuhn sendromu (trakeobronkomegali); trakea ve santral bronşlarda belirgin dilatasyonun olduğu tekrarlayan pulmoner enfeksiyonlar ile karakterize nadir görülen bir sendromdur. Simetrik sakküler bronşektazi

izlenebilir. Trakea ve büyük çaplı bronşların düz kas ve elastik dokusunda bir atrofinin olabileceği düşünülmektedir. Bu sendroma Ehler-danlos sendromu eşlik edebilir (24).

Unilateral saydam akciğer sendromu, Swywe-james-Mcleod sendromu; etkilenen akciğer tarafında pulmoner arter hipoplazisi ve proksimal bronşlarda kistik değişiklikler ile karakterizedir. Akciğer grafilerinde tek akciğer saydam olarak izlenir (1,3,24)

2.4.2.3 Konjenital İmmün Yetmezlik Sendromları

X-linked agammaglobulinemide; Streptokok, H.İnflüenza ve Pnömonokoklar gibi piyojenik bakteriler ile tekrarlayan solunum yolları enfeksiyonları sık olarak görülür. Bu etkenler ile enfekte olanlarda sinüzit, pnömoni, otit, bakteriyemi görülebilen klinik tablolardır. Tekrarlayan pulmoner enfeksiyonlar etkin bir şekilde tedavi edilmezse sıklıkla bronşektazi gelişimi ile sonuçlanır. Tedavide eksik olan gammaglobulin yerine konulur. IgG subgrup (özellikle IgG2) eksikliğinde de bronşektazi gelişebilir. Total IgG seviyesi normal olup bu hastalarda subgrup eksikliği oluşabilir. Common variable immün Yetmezlik (CVID) sendromunda da tekrarlayan veya kronik pulmoner enfeksiyonlar gelişebilmekte ve bunun sonucu bronşektazi gelişebilmektedir. Selektif IgA eksikliğinde de tekrarlayan sinopulmoner enfeksiyonlar sık görülmektedir ve sonuçta bronşektazi gelişebilmektedir (2,24).

Anatomik defektler (bronşiyal ve vasküler yapının konjenital anormallikleri)	Kartilaj yokluğu veya eksikliği (Williams-Campbell sendromu)
	Intraluminal web
	Konjenital trakeobronkomalazi veya trakeobronkomegali (Mounier-Kuhn Sendromu)
	Bronşiyal Atrezi
	Tek taraflı pulmoner arter agenezi (Swyer-James-Mcload Sendromu)
	Yellow Nail (sarı tırnak) sendromu
	Intralober Pulmoner sekestrasyon
Ultrastrüktürel defektler (Hücresel-moleküler ve metabolik anormallikler)	Primer siliyer diskineziler=İmmotil siliya sendromu (Kartagener endromu)

Konak savunmasında Kalıtsal defektler (Primer İmmün yetmezlikler)	Alfa-1 Antitripsin Eksikliği
	Young sendromu
	Kistik fibrozis
	X'e bağımlı Agamaglobulinemi
	Selektif İmmünglobulin Eksiklikleri (IgA ve IgG subgrup eksiklikleri)
	Common Variable İmmün Deficiency Sendr.

Tablo-4; Bronşektazinin Kalıtsal Nedenleri (10)

2.5 Bronşektazinin Sınıflandırılması (9)

Bronşektazi 4 şekilde sınıflandırılmıştır:

- 1- Patogenez mekanizmalarına göre sınıflandırma
- 2- Mikrobiyolojik ve patolojik bulgulara göre sınıflandırma
- 3- Bronkografik anatomiye göre sınıflandırma
- 4- Yatkınlık oluşturan faktörlere göre sınıflandırma

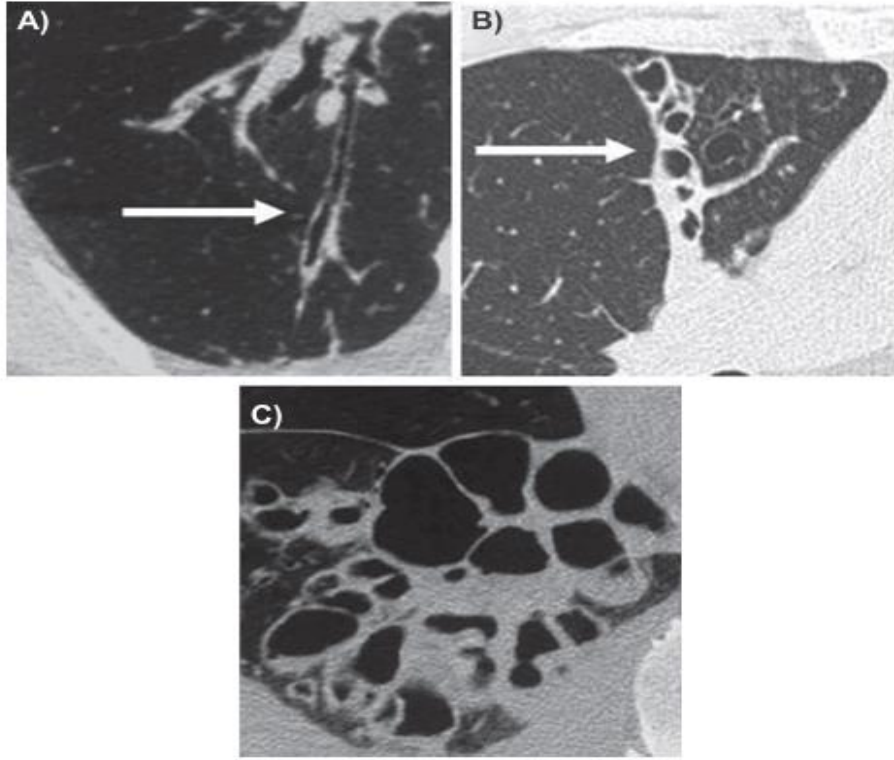
Günümüzde en çok kullanılan ve kabul gören sınıflama anatomik sınıflama olup bronkografi bulgularına göre yapılmış olan patolojik değişiklikler ile bronkografiyi ilişkilendiren Reid' in sınıflamasıdır. Reid'in çalışması bronşektazi için en önemli radyolojik-patolojik korelasyon çalışmasıdır (9).

Grup-1	Tübüler (silendirik) tip bronşektaziler
Grup-2	Variköz tip bronşektaziler
Grup-3	Kistik (sakküler) tip bronşektaziler

Tablo-5 Bronşektazide Reid' in Sınıflaması (9)

1-Silendirik (tübüler) bronşektazi; bu grup bronşektazide bronşlar tek formda genişlemiş olup giderek çapı daralmaksızın birden sonlanır ve daha

küçük bronşların koyu mukus tıkaçları ve mukus kümeleri ile tıkanması sonucu oluşur. Bronşlar 2 mm' den fazla genişler, hatta parmak girecek kadar genişleyebilir ve bu genişleme respiratuar bronşiyollere kadar uzanabilir. Bronş dallanma sayısında azalmaya yol açmaz (normalde 20-23 dallanma mevcut). Ancak bronkografide mukus ile dolu ve ödemli bronşlara kontrast madde geçemeyeceğinden subdivizyonlar azalmış olarak görülebilir (9,10,11).



Şekil:5 Reid'in yaptığı sınıflamada bronşektazinin 3 farklı görünümü izlenmektedir. A: silindirik tip, B: Variköz tip, C: Kistik tip. (16)

A:

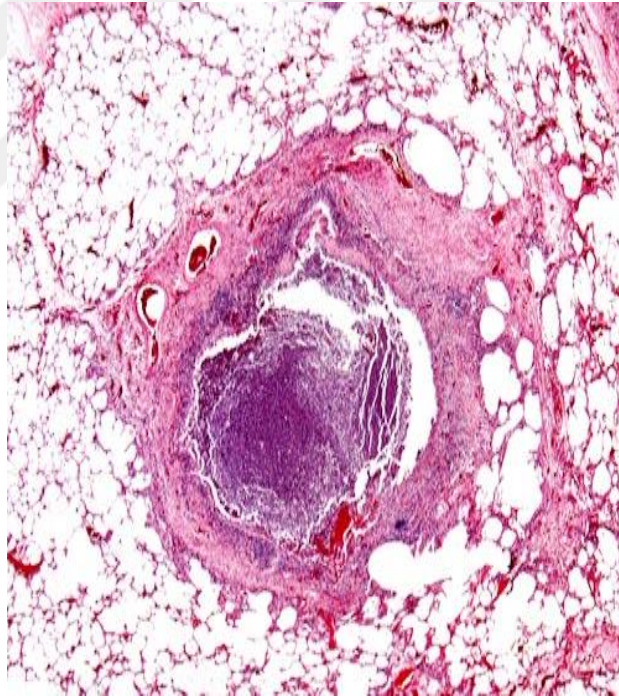
2-Variköz bronşektazi; bronşların az ve çok genişleyen kısımları yan yana gelerek variköz venlere benzer şekilde düzensiz sınırlı bronşektazileri oluşturur ve bronşlar giderek daralmadan genişlemiş büllöz yapılar şeklinde sonlanır. Bir çok alanda bronş lümenleri fibröz bantlar ile daralmış ve distalinde sıvı dolu kistler meydana gelmiştir. Bronşiyal alt dallanmalar azalarak normal dallanma sayısının yarısına düşmüştür (9,10,16,23).

3-Kistik (sakküler) bronşektazi; bronşektazinin en ağır formudur. Genişlemiş bronş segmentlerinin içi pürülan mukus dolu kistik kavite ile sonlanır. Bronş dallanma sayısı burda da azalmış. Normalde 20. dallanmadaki sakkuluslar ile sonlanması gerekirken 15. dallanmadaki sakkuluslar ile sonlanır. Periferdeki bronş dallanmalarının harabiyeti sonucu fibrozis gelişir. Bu bronşektazi tipinde farklı olarak skuamöz metaplazi oluşur (9,10,16,23).

2.6 Bronşektazinin Patogenezi

Bronşektazi patogenezinden sorumlu 2 faktör vardır; (6,32)

- 1- Enfeksiyöz atak
- 2- Konakçı savunmasında defekt olması veya hava yolu obstrüksiyonun olması ve bu nedenler ile hava yolu direnajının bozulması.

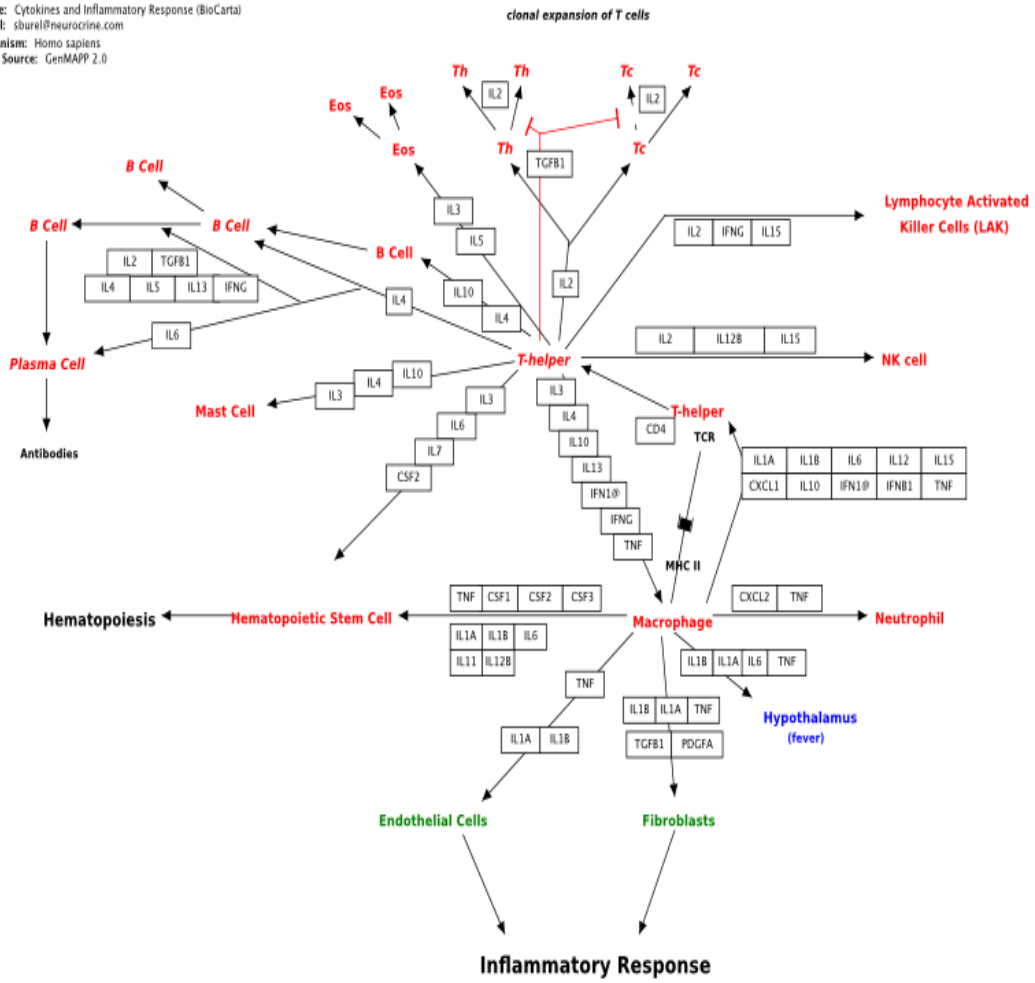


Sekil- 6 Bronşektazinin histopatolojik görünümü. Obstrüktif lezyonlar, yabancı cisim ve kistik fibrozis nedeni ile oluşan kronik inflamasyona bağlı olarak büyük hava yolları zarar görmüştür. Hava yolları destek yapıları olan kıkırdak ve düz kas dokusu kronik inflamasyon ile destrükte olmuştur. Bronş lümeni pürülan sekresyon içermekte olup bronş duvarı kronik inflamasyonlu ve fibrotik yapıda olduğu izlenmektedir (104).

Bronşektazinin patogenezi tam olarak aydınlatılmamış olmakla birlikte ana unsur enfekte mukuslu materyalin bronş duvarıyla uzun süreli teması sonucunda kas, elastik doku ve bronş duvarı kırıkdağında destrüksiyona yol açması sonucunda (şekil-6 a ve b) bronşektazi oluşmaktadır (10).

2.6.1. Kronik Enfeksiyon ve İnflamasyon

İnflamasyon, mikrobiyal enfeksiyon veya doku hasarı gibi zararlı uyarıların yok edilmesine yönelik koruyucu yanıttır. Temel olarak akut inflamatuvar yanıt, plazma ve lökosit gibi kan bileşenlerinin enfeksiyon veya hasar yerine çekilmesinin koordinasyonundan oluşur. Normal inflamasyon süreci, etkenin tanınması, lökositlerin enfeksiyon yerinde toplanması, mikroorganizmanın ortadan kaldırılması, inflamasyonun ortamdaki uzaklaştırılması ve homeostatik dengenin yeniden kurulmasını kapsar (32).



Şekil-7 Sitokinler ve İnflamatuvar cevap oluşumu (85)

İnfeksiyonun ilk olarak tanınması, doku makrofajları, dendritik hücreler ve mast hücreleri tarafından gerçekleştirilir ve etken sessizce elimine edilmeye çalışılır. Bu basamakta eliminasyonun uzaması veya başırlamaması durumunda yanıt da büyür. Bu hücrelerin salgıladıkları kemokin, sitokin, vazoaktif aminler, eikosanoidler ve proteolitik zincir ürünleri gibi aracılarn yapımı giderek artar. Bu aracılar, çoğunluğu nötrofil olmak üzere lökositleri ve plazma proteinlerini olay yerine çekerek bölgesel inflamatuvar eksuda oluşumunda rol alırlar. Doğrudan patojenle karşılaşma sonucu veya doku makrofajları tarafından salgılanan sitokinlerin etkisi ile nötrofiller aktive olarak, fagositoz yapar ve granüllerindeki toksik içeriğin boşalması ile mikroorganizmanın ortadan kaldırılması süreci başlar. Granüllerdeki çok güçlü etkiye sahip olan reaktif oksijen ve nitrojen türleri, proteinaz 3, katepsin G ve

elastaz gibi bileşikler, mikroorganizma ve hedef doku arasında ayırım yapamadığı için konak dokuda hasar oluşması da kaçınılmaz olur (32).

Akut inflamatuvar yanıt patojeni ortadan kaldıramazsa inflamasyon kalıcı hale gelir ve yeni özellikler kazanır. Nötrofiller yerine tabloya artık makrofajlar ve T lenfositler hakim olur. Etkin olan T hücre türüne göre, farklı karakterlerde inflamasyon oluşur. Kronik inflamasyonun bizzat kendisi, otoimmün yanıtı yol açacak doku hasarında yapabilir. Ya da ortadan kaldırılamayan patojen, makrofajlarca oluşturulan granülom içinde izole edilerek konak korunmaya çalışılır (33).

Sonuçta inflamatuvar yanıtın şiddetini ve süresini, birbirini tetikleyen, giderek güçlenen ve genişleyen reaksiyonların toplam sonucu belirler. Burada belirleyici olan, hem konak savunmasına hem de etkene ait koşullardır. İnflamasyonu başlatan endojen veya eksojen etkenle ilk karşılaşma sonucu gerçekleşen erken immün yanıt oluşturmaktadır. Son yıllarda inflamasyonla giden pek çok hastalıkla bu aşamanın düzenlenmesini etkileyen genetik veya yapısal bozukluklar arasında çeşitli bağlantılar olduğu anlaşılmıştır (34).

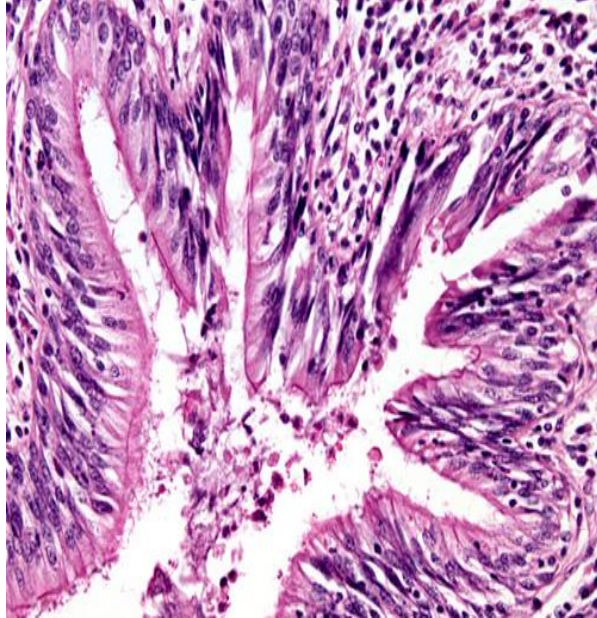
Akut alt solunum yolu (ASY) enfeksiyonlarının ardından geçici olarak bronş genişlemesi görülebilmektedir, bu yüzden bir kez saptanan silindirik bronş genişlemesi BE tanısı için yeterli sayılmamaktadır (30). Hastalığın ileri dönemlerinde ise sakküler genişlemeler saptanmakta ve değişiklikler geri dönüşsüz hale gelmektedir. Özellikle pnömoni sonrası gelişen bronşektazilerin patogeneğinde enfeksiyona karşı gelişen inflamatuvar yanıtın bronş duvarındaki destekleyici yapıların hasarına ve ardından bronşektaziye neden olduğu öne sürülmektedir. Muhtemelen tekrarlayan bakteriyel ve/veya viral enfeksiyonlar kümülatif hasara yol açarak BE gelişimine zemin hazırlamaktadır (31).

BE gelişimine neden olan etkenler arasında enfeksiyon en önde gelenidir. Yapılan çalışmalarda BE etkeni olarak enfeksiyonlar %69'a varan oranlarda bulunmaktadır. Başlangıç inflamatuvar değişiklikler sekonder bakteriyel kolonizasyonu takiben oluşur. Daha fazla bronşiyal duvar hasarı ve daha fazla kolonizasyona neden olur. İnflamatuvar destrüksiyonu yapan bu mukusun özelliği; nitrik oksit, inflamatuvar sitokinler (İL-8, İL-6 ve TNF- α) ve siliyer

hareketi ve mukosilyer klirensi etkileyen maddeleri, nötrofilik birtakım ürünleri (serin proteaz, toksik oksijen radikalleri) içermesidir. Patolojik olarak endobronşiyal mukoza dökülmüştür ve yerini siliyalı olmayan küboidal ve skuamöz epitel almıştır. Bronş duvarındaki musküler, elastik ve kıkırdak dokuda parçalanma ve destrüksiyon görülür. Etkilenen hava yolları kıvrımlı ve gevşek görünümündedir. Mukoza yer yer erozyona uğramıştır, püy dolu kistik gelişimlerle birlikte mikroapse görünimleri vardır (10).

2.6.2. Bronş Obstrüksiyonu veya Anormal Dilatasyonu:

Günümüzde tek başına bronş obstrüksiyonu bronşektaziye yol açmaz ancak bronşiyal klirensi bozup bakteriyel enfeksiyonları arttırdığı için bronşektazi gelişmesini kolaylaştırır. Tavşanlar üzerinde yapılan hayvan deneysel çalışmalarında enfeksiyon eklenmedikçe bronşektazinin gelişmediği izlenmiştir. Obstrüksiyon ve dilatasyonla normal mukosilyer klirens mekanizmaları bozulur böylece sekonder enfeksiyonlar gelişir. Kronik enfeksiyonda ise zamanla bronş duvarında hasar sonuçta zayıflama ve dilatasyon olur (29).

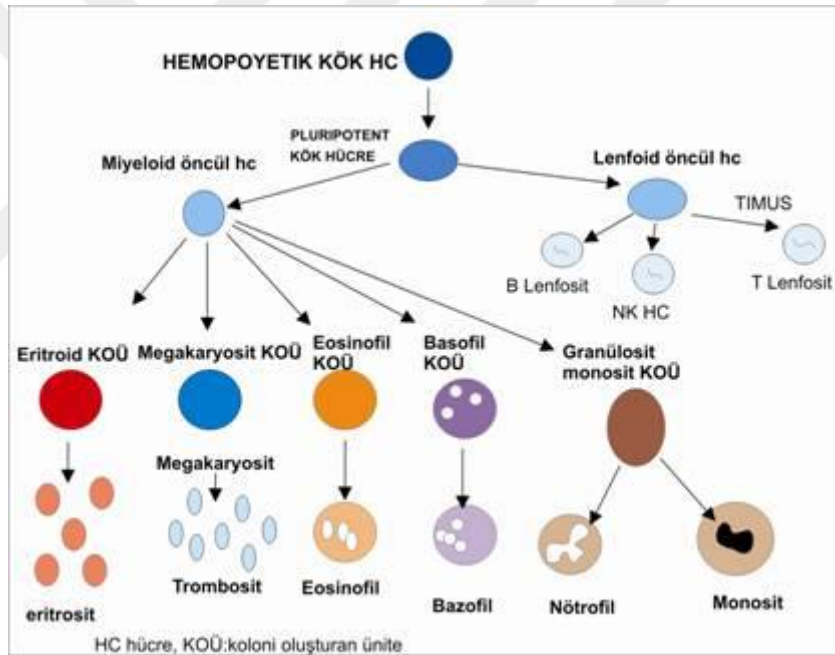


Şekil-8: Bronşektazideki siliya hasarının patolojik görünümü. Normalde akciğerlerin temizlenmesine yardımcı olan siliyanın kısmen zarar görmesi aşırı balgam üretilmesine neden olur, bu da akciğerlerde enfeksiyon oluşumu ve bronşektazi ile sonuçlanır. (105)

2.6.3. Bronşektazi Gelişiminde İmmün Sistem ve Sitokinlerin Rolü

2.6.3.1 Bronşektazide hava yolu inflamasyonunda rol alan hücreler

Nötrofiller; doğal immün yanıtta en önemli rolü oynamaktadır. Nötrofiller hızla inflame dokulara göç ve bu fagositoz, reaktif oksijen mediatörlerin üretimi ve antimikrobiyal maddeler gibi güçlü efektör mekanizmalar tarafından sağlanmaktadır. Nötrofiller bronşektazili olguların hem BAL sıvısında hem de balgamında dominant hücrelerdir. Klinik olarak stabil bronşektazi hastalarında havayollarında nötrofiller artar ancak hava yolları potansiyel patojen mikroorganizmalar tarafından kolonize olduğu zaman bunların sayıları daha da artar.



Şekil 9: Enfeksiyon ve enflamasyondan sorumlu kan hücrelerinin oluşumu (106)

2.6.3.1 İmmünglobüinler

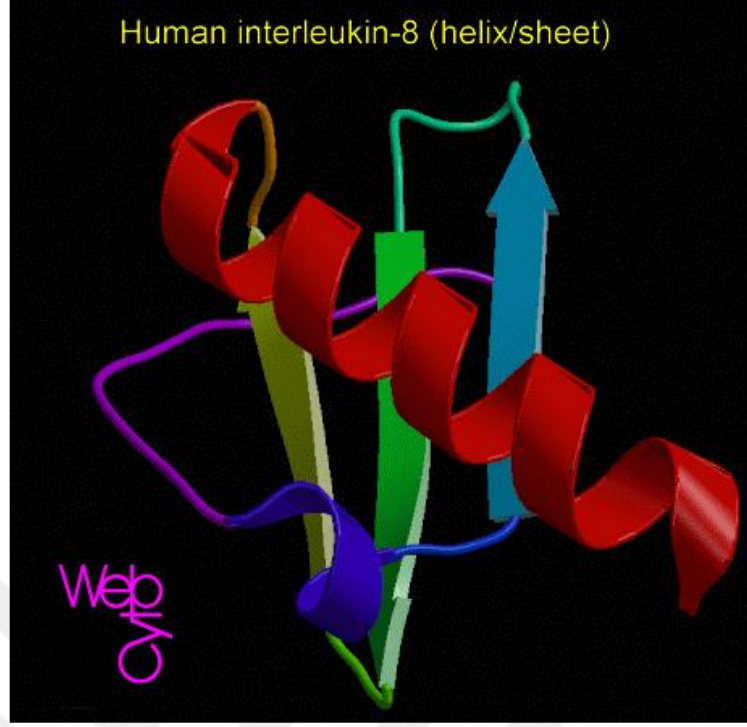
Antijenik uyarımlar sonu vücutta plazma hücreleri tarafından sentezlenen ve homolog antijenle birleşerek spesifik bir reaksiyon verebilen glikoprotein karakterinde moleküllerdir. Protein elektroforezinde γ (gamma) globulin fraksiyonundadırlar. Fiziksel, kimyasal, biyolojik ve antijenik özellikleri

üzerindeki çalışmalarda insanlarda beş ayrı sınıfa ayrılabilceğı saptanmış olup bunlar IgG, IgA, IgM, IgD ve IgE olarak kodlanmıştır. Sağlam bir immunglobülin molekülü proteolitik bir enzim olan papain ile sindirime maruz tutulduğunda, enzim, antikor kavşak bölgesinden üç parçaya ayırır (75).

Bunlardan ikisi, hem hafif ve hem de ağır zinciri birlikte içeren, birbirinin aynısı olan, tüm molekülün yaklaşık 2/3'ünü oluşturan ve iki benzer parçadan meydana gelmiş olan Fab (fragment antijen binding) kısmı ile diğeri sadece ağır zincirden meydana gelmiş kristalize olabilen Fc (fragment crystallizable) bölümüdür. Molekülün Fab kısmı homolog antijenle birleşme yeteneğine sahip olmasına karşın Fc bölümünün böyle bir etkinliğı yoktur

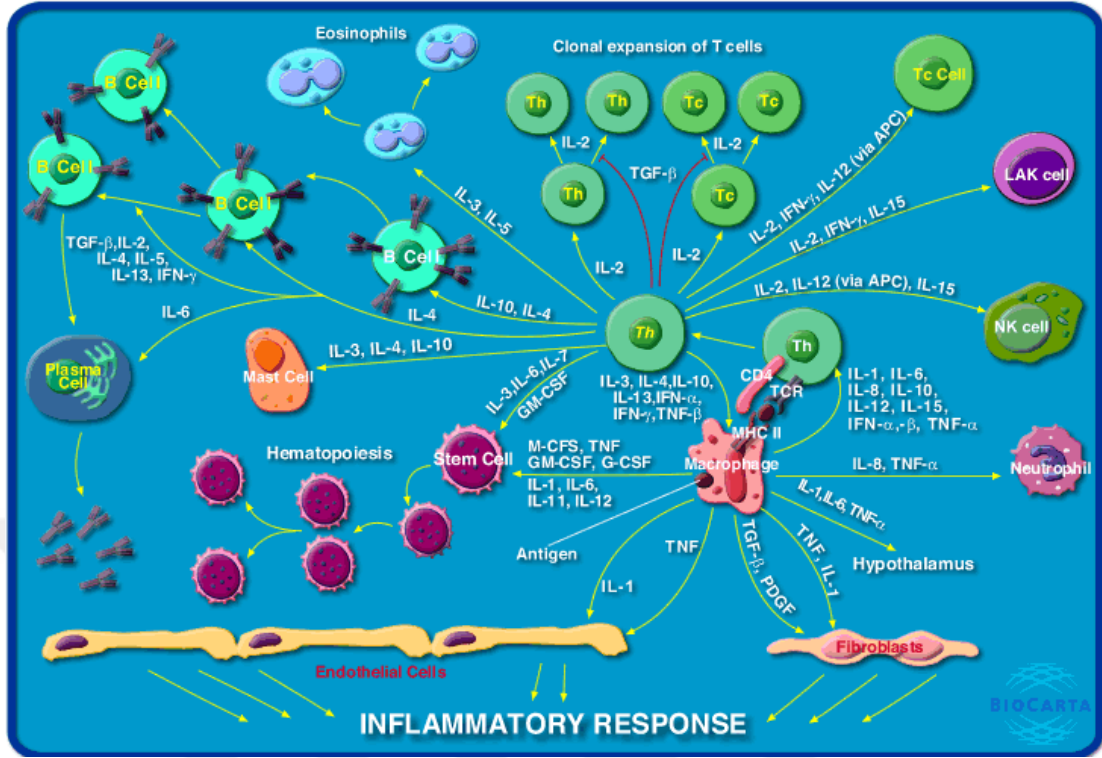
2.6.3.2 Sitokinler

Spesifik ve doğal immun sistemin hücrelerince salgılanan immun sistem fonksiyonları üzerine hayati öneme sahip regülatör proteinlerdir. Sadece immun ve inflamatuvar yanıtları etkilemekle kalmazlar aynı zamanda hematopoez ve yara iyileşmesi gibi bir çok biyolojik olayları da regüle ederler. Antijen spesifik değildirler ancak yapımları ve salgılanmaları antijen uyarısına bağlıdır (69).



Şekil-10: İnsan interlökinin helix yapısı (84)

Farklı lökosit toplulukları arasında iletişim sinyalleri olarak iş görmeleri nedeniyle bir grup sitokinler interlökinler (IL) olarak isimlendirilmişlerdir. İnflamasyondaki rollerine göre sitokinler proinflamatuvar sitokinler ile anti-inflamatuvar sitokinler olmak üzere iki gruba ayrılırlar (71). İnflamasyonda lokal sistemik olarak oynadıkları önemli rolleri nedeniyle İnterlökin-1 (IL-1), İnterlökin-6 (IL-6) ve Tümör Nekroz Faktör (TNF) ve kemokinler pro-inflamatuvar sitokinler olarak, lenfositlerin aktivasyonunda ve farklılaşmasındaki önemli rolleri nedeni ile IL-2, İnterlökin-4 (IL-4), immunoregülatör sitokinler olarak bilinir. İnterlökin-10 (IL-10) ve İnterlökin-13 (IL-13) ve TGF- β 'nın antiinflamatuvar özellikleri ön plandadır. IL-3, GM-CSF daha çok immatür lökositlerin büyüme ve farklılaşmasında rol oynarlar (69).

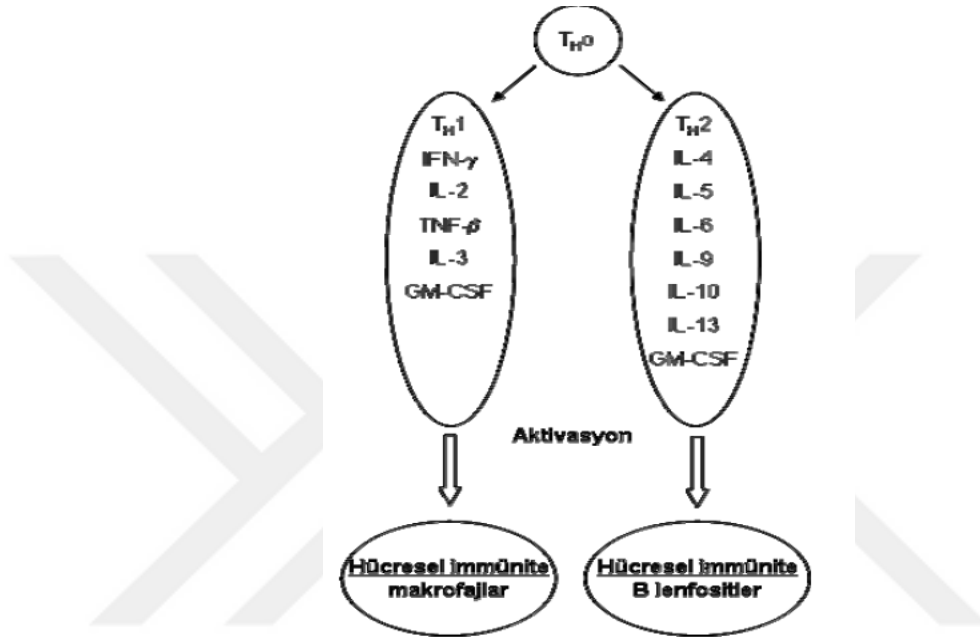


Şekil-11 İnflamatuar cevapta rol alan sitokinler (85)

Sitokinler, CD4+ T lenfosit ve aktive makrofajlar gibi birçok hücre tipinden oluşan mediyatörlerdir. İmmatür CD4+ T hücreler (TH0) farklı sitokin sekrete edebilme yeteneğinde olan TH1 ve TH2 hücrelerine farklılaşma özelliğine sahiptir. T hücrelerden sekrete edilen sitokinler ve hüresel orijinler Şekil-5' de gösterilmektedir. Sitokin sekresyonu, bakteriyel ürünler, immün kompleksler, toksinler, fiziksel travmalar ve çeşitli inflamatuvar olaylarla uyarılabilirler. Sitokinler polipeptid yapıda olup inflamasyonda en önemlileri interlökinler (IL) ve tümör nekroz faktör-alfadır (TNF-α). Özellikle IL-1 ve TNF-α birçok ortak biyolojik özellikleri paylaşır. Her ikisi de aktive makrofajlar, lenfosit ve diğer hücre tipleri tarafından oluşturulur ve proinflamatuvar sitokinler olarak adlandırılırlar. Başlıca 3 etkiye sahiptirler (36):

- 1- Sistemik akut faz reaksiyonlarını tetikleyici etkiler: Aktive makrofajlardan salınan IL-1 ve TNF-α akut faz proteinlerinin artışı, ateş oluşumu ve iştah kaybından sorumludurlar.

- 2- Endotelial etkiler: Lökosit adezyonu, prokoagulan aktivite ve TAF aktivasyonundan sorumludurlar
- 3- Fibroblastik etkiler: Kollagen sentezi ve fibroblast proliferasyonunu arttıırırlar.



Şekil 12 : Hücrel immünitenin komponentleri (106)

TNF- α ve IL-8 kuvvetli kemoatraktif medyatör olup nötrofillerin kemotaksisi ve aktivasyonuna neden olur. TNF- α , immünoinflamatuar reaksiyonlarda düşük konsantrasyonlarda (10^9 M) lokal etki gösteren güçlü parakrin ve otokrin düzenleyicidirler. Aynı zamanda birçok hücre tipinde büyüme ve farklılaşmayı düzenler. Özellikle interferon-gama (IFN- γ) ile kombinasyonu sitotoksiktir. İn vivo olarak mürin sarkomlarının nekrozunda rol alır. Çalışmalar, TNF α 'nın akut inflamasyonda ve antitümöral immünitede en önemli sitokin olduğunu göstermektedir. Nötrofil ve endotel hücrelerini uyarak adezyon ve kemotaksisi yönetir. TNF- α , aktive monositler, makrofajlar ve daha az çoğunlukta aktive T hücreler, B hücreler, mast hücreler, fibroblast, keratinosit, kupfer hücreleri, düz kas, sinovial örtü hücreleri ve bazofil gibi birçok hücre tipinden salgılanmaktadır. Fibroblastların ve endotel hücrelerinin TNF- α aracılıklı proliferasyonu yara iyileşmesinde önemli bir

elementtir. Ayrıca TNF- α , endotelyal vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM)'nın sentezinde önemli bir uyarandır. TNF- α üretimi, IL-10, TGF- β , PGE tarafından inhibe edilir (37).

Sitokinler	Kaynağı	Aktivitesi
IL-6	Makrofajlar T lenfositler Endotelyal Hücreler	İnflamasyon Akut faz proteinlerinin sentezi Antikor yapıcı hücrelerin çoğalması
IL-8	İmmün hücreler, fibroblastlar, akciğer epitel hücreleri	Kemotaksis Anjiyogenezis
IL-10	Makrofajlar T lenfositler (Th2) akciğer epitel hücreleri	Sitokin sentez inhibitörü (IL-12 yapımının inhibisyonu) Antiinflamatuvar İmmünregülatuar
TNF- α	Makrofajlar T lenfositler	İnflamasyon Koagulasyon Akut faz proteinlerinin sentezi Ateş İmmünregülatuar Apoptoz

Tablo 6: Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinlerin kaynağı ve aktivitesi (77)

İnterlökin-6 (IL-6): Başlıca aktive edilmiş makrofajlarda sentezlenir. İn vivo olarak verilen IL-6 nötrofil sayısını artırır. Ayrıca öncü kan hücrelerinin değişimine ve koloni oluşturmalarına neden olur. Hücrelerde IL-2 yapımını ve

IL-2 reseptör sergilenmesini artırır. B hücrelerinin büyüme ve farklılaşmalarına yardım ederek antikor sentezleyen hücrelere dönüşmelerine yol açar. Hepatositlerden akut faz proteinlerinin salınımını artırır (77). IL-6 inflamatuvar yanıtta merkezi bir rol oynayan temel pro-inflamatuvar sitokindir (72). Ayrıca B hücrelerinde, T hücrelerinde, mezenkimal hücrelerde, keratinositlerde, sinir hücrelerinde, osteoklastlarda ve bazı tümör hücreleri ile endotelial hücrelerde büyüme ve farklılaşmadan sorumlu çeşitli biyolojik işlevleri de düzenlemektedir (73,74). IL-6 ve inflamasyon ile ilişkili diğer sitokinler karaciğer hücrelerinde inflamatuvar yanıtın temel proteini olan akut faz proteinlerinin ekspresyonundan sorumludur (75).

İnterlökin 6, B hücre stimulator faktör II (BCSF II), interferon b2 (INF b2), myeloma/plazmasitoma büyüme faktör, hibridoma büyüme faktör (HBF), hepatosit stimüle edici faktör, B hücre farklılaştırıcı faktörü (BHFF) ve sitotoksik T hücre farklılaştırıcı faktörü olarak da adlandırılır (76).

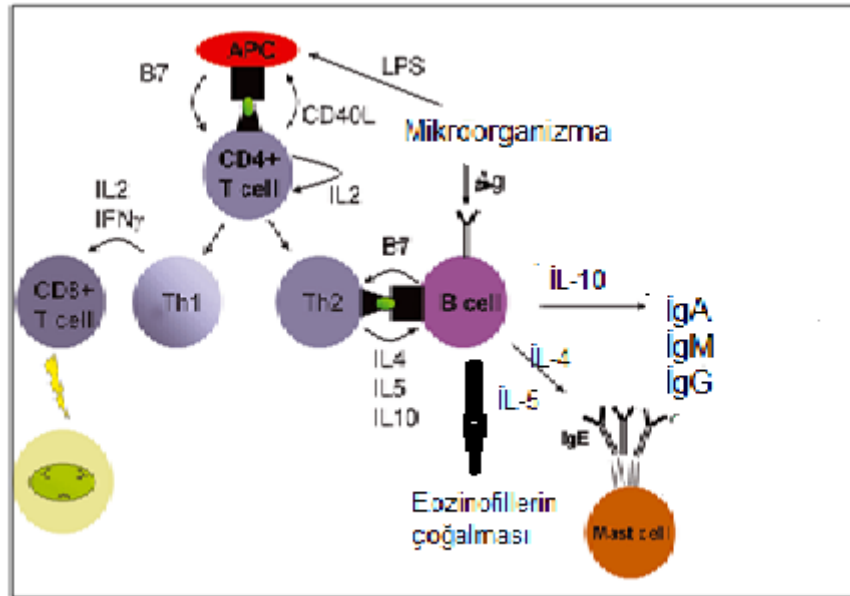
İnterlökin-8 (IL-8): IL-8 ve kemokinler; makrofajlar, nötrofiller ve hava yolu epitel hücrelerince salgılanır. IL-8 güçlü, selektif bir nötrofil kemoatraktan sitokindir. İnterlökin 8 lökositlerin ve fibroblastların kemoatraktan aktivitesini arttıran protein ailesine bağlıdır (82). Bu protein ailesine kemokinler denmektedir. IL-8 monositler, nötrofiller, ve NK hücreleri tarafından üretilmekte olup nötrofiller, bazofiller ve T-hücreleri için kemoatraktandırılar. Ayrıca IL-8, nötrofilleri degranüle olmaları için aktive eder (83). Akut enflamasyon polimorfonükleer (PMN) lökositlerin damarlardan ve plazmadan sıvı olarak dışarı çıkması ile karakterizedir (83). Enflamasyon safhası prostoglandin ve pro-inflamatuvar sitokinleri sentezleyen ve salınan doku makrofajları tarafından yönlendirilir (83). IL-8 iki reseptör aracılığı ile sinyal verir: düşük afiniteli CXCR1 ve yüksek afiniteli CXCR2. CXC kemokinleri ailesinde; büyüme ilişkili nötrofil aktive edici faktör (GRO-a, b, g), epitel kaynaklı nötrofil aktive edici peptid (ENA-78) gibi çeşitli kemokinler bulunur. IL-1 β , TNF- α ve IL-8 birlikte sinerjistik etkiyle yeni polimorfonükleer lökositleri dokuya yollarken prostoglandinler kan damarlarını genişletir ve ağrı oluşturur (83). IL-1 β ve TNF- α damar

endotelindeki polimorfonükleer lökositlerin yapışmasını sağlayacak molekülleri regüle eder (83). IL-8 ise polimorfonükleer lökositler için kemotaktiktir. Pro-inflamatuvar sitokinler aynı zamanda ateş, kaşeksi, uyuşukluk gibi sistemik reaksiyonların oluşumuna da neden olurlar (83).

İnterlökin-10 (IL-10): T hücreleri alt gruplarında (Th2) sentezlenen bir sitokin olarak tanıtılmıştır. Antiinflamatuvar olaylarda rol oynar. Th2 dışında B hücreleri, makrofaj ve akciğer epitel hücrelerinden de sentezlendiği bildirilmiştir. IL-10 T hücrelerinde sitokin sentezlenmesini inhibe eder. IL-10 etkisi ile inhibe edilen sitokinler IFN-gamma ve IL-3 olarak saptanmıştır. Buna karşın GM-CSF lenfotoksin ve TNF-alfa düzeylerinde değişme görülmemiştir (77,78). IL-10 Makrofajlardan TNF- α ve IL-8 salınımını inhibe eder. Matriks metalloproteinazların doku inhibitörlerinin ekspresyonunu artırırken matriks metalloproteinazların ekspresyonunu azaltır. IL-10 reseptörlerinin selektif bir aktivatörü saptanabilirse IL-10'un bronşektazideki terapötik potansiyeli daha da yükselecektir (70). Antijen sunan hücre (alveoler makrofaj) IL-1 ile uyarılırsa Th1 hücrelerde IL-2, INF- α , lenfotoksin ve belirli oranda B lenfosit cevabı oluşur. Th1 hücreler geç tip hipersensitiviteyi başlatabilir (86). Th2 hücreleri IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 ve IL-13 oluşturur ve antikor cevabı için uyarıcı rol oynar. IL-2 hücrel immünite ve geç tip hipersensitivitede rol oynamaz. Th2 hücreler IL-4, 5, 6, 10 ve B lenfositleri uyarıcı etki gösterirken, Th1 hücreler INF- α üretimi ile Th2 hücrelerinin çoğalmasını önlemektedirler. Th2, CD8, mast hücreleri, keratinositler ve B lenfositler de IL-10 oluştururlar (87). Th2 ye çok güçlü cevaplar allerjik reaksiyonlara neden olur. Çünkü Th2' den olusan IL-4 IgE' ye dönüşümü, IL-5 de eozinofillerin çoğalmasını ve farklılaşmasını artırır. IL-10 aktif mast hücreleri vasıtası ile inhibe edici etki de göstermektedir. Ayrıca, periferik ve özellikle timik T lenfositler üzerine proliferatif etki gösterir. IL-10 ve IL-4 NK vasıtası ile sitokin sentezini önlemektedir. B lenfosit farklılaşmasına neden olur ve uyarılmış B lenfositler büyük miktarda IgG, IgA, IgM salar. Morfolojik olarak plazma hücresine benzeyen uyarılmış B lenfositleri anti-CD40'ın farklılaşmasına neden olurlar (88). TGF beta ile sinerjistik etkilidir

ve IgA dönüşümünde rol oynar. TGF beta bütün Ig izotiplerinin sentez ve salınımını önleyici etki göstermektedir (88).

TNF- α : İnterlökinlerle aktive edilen monosit ve makrofajlarda sentezlenip, salınan effektör sitokinlerden birisidir. Hayvan vücudunda makrofaj ve sitotoksik T hücrelerinin tümorosidal aktivitelerinin çoğunda TNF etkili olmaktadır. TNF etkisi ile tümörlerin nekrozu, doğrudan tümör hücrelerini etkileme ile değil, muhtemelen tümör içeren dokuların damarlanmasını zedeleyerek etki eder ve nekroz oluşturur (77). TNF- α , aktive monositler, makrofajlar ve daha az çoğunlukta aktive T hücreler, B hücreler, mast hücreler, fibroblast, keratinosit, kupfer hücreleri, düz kas, sinovial örtü hücreleri ve bazofil gibi birçok hücre tipinden salgılanmaktadır. Fibroblastların ve endotel hücrelerinin TNF- α aracılıklı proliferasyonu yara iyileşmesinde önemli bir elementtir. Ayrıca TNF- α , endotelyal vasküler hücre adezyon molekülü (VCAM)' nün sentezinde önemli bir uyarandır. TNF- α üretimi, IL-10, TGF- β , PGE, siklosporin A, deksametazon, ibuprofen, metilprednizolon ve pentoksifilin tarafından inhibe edilir (90).



Şekil-13 Bağışıklık cevabında gözlenen 2 yol (Th1 ve Th2)

2.6.3.4 Sitokin Gen Polimorfizmi

Th1 (proenflamatuvar) ve Th2 (antienflamatuvar) hücreler tarafından üretilen sitokinler pek çok infeksiyon, otoimmün ve malign hastalıkların patalojisine etki etmektedir. Sitokin profilleri arasındaki bireysel farklılıkların bir kısmı, sitokin genlerinin düzenleyici bölgelerindeki allelik polimorfizmlere bağlı olarak ortaya çıkar. Son yıllarda giderek artan sayıda infeksiyon, otoimmün ve malign hastalıklarda dahil olmak üzere çeşitli hastalıklar ile sitokinler arası ilişkiyi kapsayan çalışmalar bildirilmiştir. İnsan hastalıklarında rasyonel sitokin gen polimorfizm çalışmaları ana başlıklar halinde özetlenmektedir (80).

- İnsan hastalıkları patolojisi ve etyolojisinin anlaşılması,
- Muhtemel belirteçlerin klinik olarak hastalığın ortaya çıkışı ve şiddetine etkisinin tanımlanması,
- Muhtemel belirteçlerin, tedaviye yanıt ve yanıtızlıktaki etkileri,
- Hastalıkların tedavisi için hedeflerin belirlenmesi,
- Hastalıkların önlenmesi için yeni stratejilerin belirlenmesi (asılar vb).

Yapılan çalışmalarda sitokin düzeyleri bireysel farklılık göstermekte; bu farklılık gen düzenleyici bölgelerdeki allelik polimorfizmlerle açıklanmaktadır. Sitokin gen polimorfizmleri ile insanlarda hastalık gelişimini içeren çalışmalar iki başlıkta ele alınabilir (80).

- 1- İn vitro gen ekspresyon çalışmaları
- 2- İnsanlarda ortaya çıkan immün yanıt; sitokin mRNA, sitokin üretimi yada sitokin reseptör üretimi ile belirlenir.

Sitokin mRNA ya da sitokin reseptör üretiminde ve ekspresyonunda artma ve/veya azalma insanlarda ortaya çıkan immün yanıtın bir göstergesidir. Sonuç olarak immün yanıt bireysel değişkenlik gösterir. İn vitro gen ekspresyon çalışmaları immün yanıtındaki bireysel farklılığın genetikle ilişkisini göstermeye yöneliktir ve sitokin genlerinin ekspresyonunun araştırılması ile gerçekleştirilir. (80).

Bu amaçla

1. Sitokin / sitokin reseptör mRNA veya sitokin / reseptör protein miktarı veya

2. Sözkonusu allelik gen bölgesinin izole edilerek (bir vektöre klonlanması ile) uygun hücre dizisine transeksiyonu ve sonuç olarak protein ekspresyonu ölçülür.

Yapılan ölçümler, kullanılan hücre dizisi ve diziyi elde etmeden önce verilen tedaviler gibi çeşitli faktörlerden etkilenmektedir (80).

2.7 Bronşektazinin Klinik Değerlendirilmesi

Kronik öksürük, balgam çıkarma, tekrarlayan akciğer enfeksiyonları ve hemoptizi şikayetleri ile bronşektazi düşünülen hastalarda tanı; akciğer grafisi, balgamın mikroskopik incelemesi (balgam yayması ve kültürü, bakteri, mikobakteri, mantar), tam kan sayımı (beyaz küre ve eozinofil sayımı), solunum fonksiyon testleri, akciğer tomografisi (HRCT), bronkoskopik işlemler (cerrahi tedavi olasılığının değerlendirilmesi), gerekli görülürse immünolojik değerlendirme (IgA, IgE, IgM, IgG ve subgrupları), ter testi (yaş grubuna göre kistik fibrozis düşünülen olgularda), mukosilyer klirens çalışması, serum Alfa-1 antitripsin seviyesi, cilt prick testi, aspergillus antijeni, aile öyküsü ve diğer organ sistemlerinin incelenmesi ile konulur (2,38).

Genç, sık pnömoni-bronşit atakları geçirme durumunda	Serum İmmünglobülin seviyeleri
ABPA	Deri testi, Aspergillus antijeni
Kistik fibrozis	Ter testi, genetik çalışma
Yabancı cisim, endobronşiyal tıkayıcı lezyon	Fiberoptik Bronkoskopi işlemi
Alfa-1 Antitripsin eksikliği	Alfa-1 Antitripsin seviyesi
Primer siliyer diskinezi	Mukosilyer klirens çalışmaları
Romatoid artrit	RF

Sarkoidoz	Toraks BT, ACE, TBAB, Lenf nodu biyopsisi
İmmün yetmezlik sendromları	Serum İmmünglobülin seviyeleri

Tablo-7 Bronşektazide Tanısal Değerlendirme

2.7.1 Semptom ve Bulguların Özellikleri

Bronşektazili olguların çoğunda sık tekrarlayan sinopulmoner enfeksiyon hikayesi vardır. Bazen paroksizmal olabilen öksürük bronşektazililerde en sık görülen semptomdur. Öksürük genellikle kroniktir ve mukopürülan balgam vardır. Bronşektazi klinik yönden kuru ve yaş olmak üzere ikiye ayrılır. Kuru bronşektazi; enfeksiyonun yerleşmemiş olduğu, balgam çıkarmanın belirgin olmadığı dönemlerdir. Bronşektazide özellikle üst loblar tutulduğunda bu bölgenin direnainının iyi olmasına rağmen bol balgam yakınması belirgin olmayabilir. Bu durumda “kuru bronşektaziden” söz edilir (29).

Semptom ve belirtiler	Özellikleri
Öksürük	En sık ve ilk görülen semptomdur, kronik, tekrarlayıcı veya devamlı prodüktif öksürük olabilir
Balgam çıkarma	Özellikle sabahları yoğun öksürükle beraber bol balgam çıkarma olur, mukopürülan veya hemoptizi olabilir
Nefes darlığı	Hastalık yaygınsa veya alevlenmelerde görülebilir
Göğüs ağrısı ve ateş, Hemoptizi	Alevlenmelerde görülebilir
Fizik Muayene Bulguları	Özellikleri
Ral	

Ronküs	
Wheezing	
Çomak parmak	
Siyanoz	

Tablo-8 Bronşektazinin Klinik Özellikleri

Özellikle çocuklarda tek semptom öksürük olabilir. daha sık karşılaşılan “yaş bronşektazi” türünde; devamlı veya sık prodüktif öksürük esas semptomdur. Pürülan balgam olguların % 90’ nında vardır. Tipik olarak sabahları yoğun öksürük ile birlikte gece bronşlarda biriken balgam çıkarılır (2). Balgamın belirgin semptom olmadığı (kuru tüberküloz bronşektazileri) veya pürülan olmadığı (hafif bronşektazilerde antibiyoterapi sonrası dönem) dönemler olabilir. Balgam miktarı tedavisiz ileri hastalıkta günde 600 ml’ e kadar çıkabilir. Bir kaptan toplanan 24 saatlik balgamda 3 tabaka oluşur. Üst tabaka renksiz veya hafif yeşil-kahverengi köpüklü, orta tabaka köpüksüz, ince mukoid bir tabakadır. Alt tabaka iltihabi hücreler, fibrin, bronşiyal tıkaçlar, yağ asidi kristalleri, elastik liflerden oluşan kalın yeşilimsi bir sedimenttir. Atakların antibiyotiklerle tedavisi ve postüral direnaja balgam hacmini, pürülansını ve sekonder anaerob bakterinin üreme olasılığını azalttığından günümüzde balgamın bu özelliklerine daha seyrek olarak ve çok az sayıda hastada rastlanır (29).

Hemoptizi, sık karşılaşılan bir belirtidir ve bronşektazi olgularının % 40-70’ inde oluşur (2). Kuru bronşektazili hastalarda daha sık görülmektedir. Hemoptizi genellikle hafif ve balgamla karışık kan şeklindedir. Ancak dilate bronşiyal arterler veya sistemik basınç altındaki bronşiyal-pulmoner anastomozlardan kaynaklanan masif kanamalar da görülebilir. Yaygın bronşektazi hastaları dispneden yakınabilir. Wheezing ve dispne ilk dönemlerde sadece ataklarda saptanırken bronşektazinin ilerlemesi ile devamlı hale gelir (29).

Viral, bakteriyel bronşit ve kolonize bronş tıkaçlarının neden olduğu akut ataklarda; ateş, öksürük, balgam miktarında artış ve nefes darlığı oluşur.

Bazı olgularda plöritik göğüs ağrısı enfeksiyon ataklarının belirtisi olabilir. Çok sık tekrarlayan ataklar iştahsızlık ve kilo kaybına neden olur (2).

Fizik muayenede; bronşektazik loba uyan bölgede oskültasyon ile inspiryum başında başlayıp ortasına kadar şiddetli devam eden ve inspiryum sonunda zayıflayan orta-kaba raller duyulur. Ekspiryum uzaması ve yaygın ronküs hastalığın ilerlemesi ve yaygınlaşması ile belirginleşir. Çok ağır bronşektazi oluşmuş loblarda solunum sesleri zayıflamış olarak duyulur. Pnömoni ile komplike olmuş bronşektazi alanlarında bronkoveziküler sesler duyulabilir. Klasik bronşektazinin klinik tablosu olmayan olgularda aynı akciğer bölgesinde tekrarlayan pnömoniler lokalize bronşektaziye düşündürür. Bilateral bronşektazili olgularda bronş direnaji kötü olan alan semptomlara neden olabilir ve oskültasyon bulguları sadece bu bölgede duyulabilir. Yaygın bronkopulmoner hasarı olan bronşektazililerin % 5-10' nunda çomak parmak, siyanoz, kor pulmonale ve sekonder amiloidozis oluşabilir. Özellikle konjenital predispozan faktörü olanlarda bu tür komplikasyonlar sıktır (2, 29).

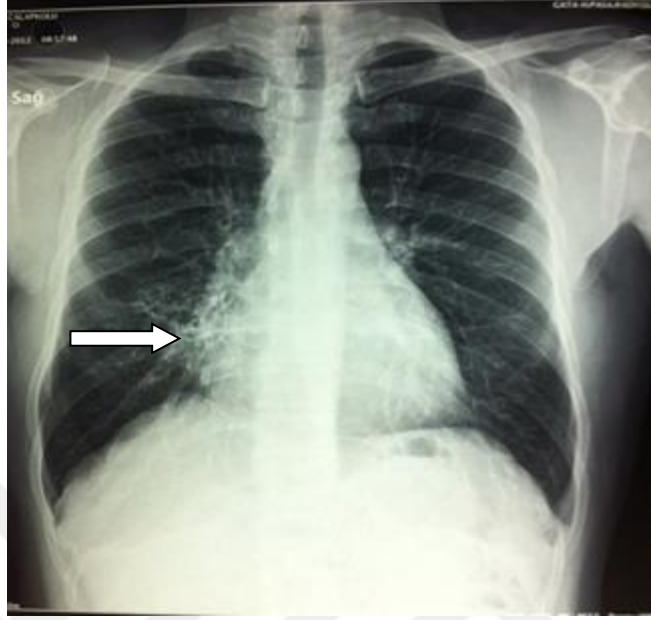
Şekil: 14 Çomak parmak görünümü

Dispnenin Artması	Bu 9 kriterden 4 tanesinin olması alevlenme olarak kabul edilir
Öksürüğün Artması	
Balgam Çıkarmanın Artması	
Ateşin Olması	
Hırıltılı Solunumun Artması	
Egzersiz Toleransının Azalması	
Spirometride Azalma	
Radyolojik Değişiklikler	
Dinleme Bulgusunda Değişiklikler	

Tablo-9 Bronşektazinin Alevlenme Kriterleri

2.7.2 Radyolojik Özellikler

2.7.2.1 Akciğer grafisi;



Şekil-15 Bronşektazili hastalarımızdan A.Ç' a ait akciğer grafisi görünümü

Normal akciğer grafisi bulguları	% 7-20' sinde erken dönemde grafi normal olabilir
Peribronşiyal gölgelenmede artış	İlk radyografik değişikliklerdir
Kalınlaşmış bronş duvarları	
Tramvay yolu görünümü	Peribronşiyal fibrozis ve komşu alveollerde kollaps ile oluşan birbirine paralel iki çizgi halinde tübüler gölgeler "tramvay yolu" görünümü denen ince paralel çizgiler ve ince saydam alanlar
Diş macunu görünümü	"Diş macunu" görüntüsü denen kalın paralel çizgiler

Ring görünümü	Grafide dik bronş kesitlerinde, periferik yuvarlak kalın duvarlı yüzük şeklinde düzensiz nodüller (mukus dolu bronşlar) şeklinde görülebilir
Bronşektazi kronik hale geldiğinde	Peribronşiyal alveoler atelektaziler artarak özellikle alt loblarda tübüler bronş gölgelerinin birbirine yaklaşmasına neden olur
İndirek kanıtlar olarak	Akciğer volüm kaybının oluşması nedeniyle fissürler, diyafragma ve trakeada yer değişikliğine sebep olur
Eldiven parmağı görünümü	Kalınlaşmış bronşektazik segmentin içi biriken iltihabi sekresyon ile dolunca homojen radyoopak bantlar haline gelir bu da mukus sütunu veya eldiven parmağı görünümü oluşturur
Hava-sıvı seviyesi	İlerlemiş sakküler bronşektazilerde genişlemiş olarak sonlanan bronşların uç kısımlarında hava-sıvı seviyesi olan solunum ile büyüyüp küçülen büyük kistik oluşumlar izlenebilir
Bal peteği görünüm	Çok ilerlemiş bronşektazilerde bal peteği görünüm oluşur

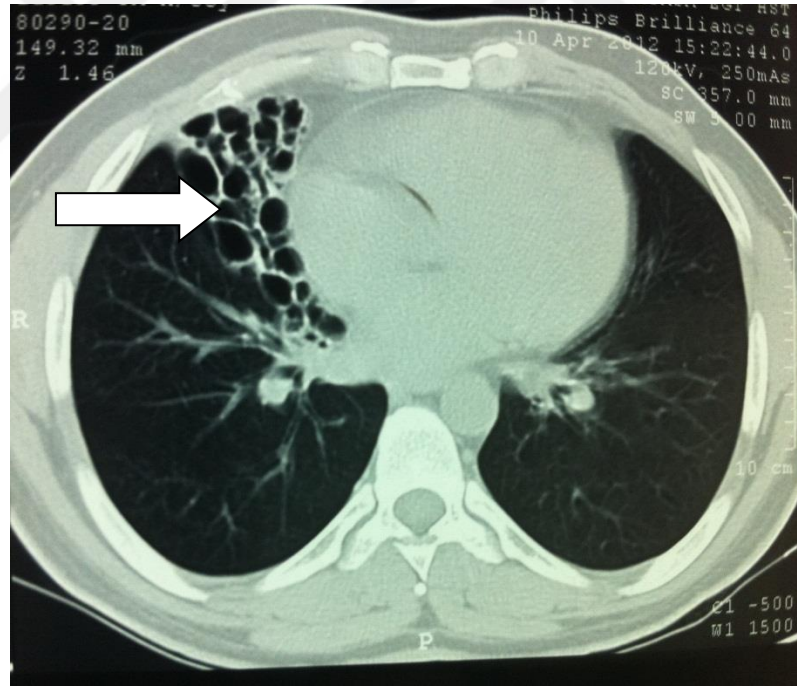
Tablo-10 Bronşektazinin Akciğer Grafisi Bulguları (29).

2.7.2.2. Bronkografi

Bronşektazi tanısı ve yaygınlığının belirlenmesinde eskiden altın standart olarak kullanılan bronkografinin, solunum ile görüntü bozukluğu, lokal anestezi gereksinimi ve kontrast maddenin verdiği rahatsızlık gibi dezavantajı vardır. Son yıllarda tanı için daha konforlu ve pratik olması nedeniyle BT tercih edilmesine rağmen preoperatif lokal segmental bronşektazilerin daha iyi belirlenmesi ve postoperatif fistül gibi komplikasyonların saptanması için 1980' li yıllarda kullanılırdı (29).

2.7.2.3. Bilgisayarlı Tomografi

Son yıllarda bronşektazinin noninvazif tanısı ve yaygınlığının belirlenmesinde tercih edilen HRCT' nin sensitivitesi % 97 ve spesifitesi % 93 olup yüksektir (2). 1982 yılında bronşektazili hastalarda BT ve bronkografi bulguları karşılaştırılmış ve bronşektaziye düşündüren BT bulguları tanımlanmıştır. HRCT ile küçük hava yolu hastalığı da tanınabilir.



Şekil-16 Bronşektazili hastalarımızdan A.Ç' a ait HRCT görünümü

Tramvay yolu görünümü= ray belirtisi	Silindirik bronşektazilerde aksiyel kesite paralel bronşların, aynı çapta genişleyerek akciğer periferine kadar uzanan kalın duvarlı genişlemiş bronşlar ve “tramvay yolu” görünümü denen düz bronşiyal genişlemeler
Yüzük belirtisi= ring sign	Silindirik bronşektazilerde dik kesilen bronşların, iç çapı eşlik ettiği pulmoner arter dalından daha geniş bir yüzük görünümündedir
Silindirik bronşektazi	Hava yolu çapının damar çapından 1.5 kat daha fazla olması silindirik bronşektazi için tanısaldır
Variköz bronşektaziler	Variköz bronşektaziler silindirik bronşektaziden daha geniş ve düzensiz bronşektazi görünümü verir, düz dilatasyon yerine genişlemiş bronşta “tomurcuk” benzeri görünüm izlenir
Sakküler bronşektaziler	Sakküler bronşektazilerde, çok genişlemiş bronşlar, bazısı hava-sıvı seviyesi içeren yan yana üzüm salkımı şeklinde kistler görülür

Tablo-11 Bronşektazinin HRCT Bulguları (2, 29)

2.7.2.4. Fiberoptik Bronkoskopi işlemi

Direk tanıda kullanılan bir yöntem olmamakla birlikte bronşektaziye zemin hazırlayan obstrüksiyonun değerlendirilmesinde ve hemoptizinin yerinin belirlenmesinde yardımcıdır (29).

2.7.3 Mikrobiyolojik Özellikler

Bronşektazili hastalarda patojenik mikroorganizmalar tarafından sıklıkla kolonizasyon gelişmektedir. En sık saptanan patojenler hastaların % 55' inde kolonize olan *Haemophilus influenzae* ve % 26' sında kolonize olan *Pseudomonas spp'* dir. Bu olguların alevlenmelerinde eskiden en önemli etkenler *Streptococcus pneumonia* yeni çalışmalarda % 12 oranında ve üçüncü sırada bulunmuştur. Diğer önemli etkenler *Moraxella catarrhalis*, *aspergillus* ve *Mycobacterium Avium Complex*'dir. *Staphylococcus aureus* seyrek görülür, tekrarlayan üremeler durumunda tanı almamış kistik fibrozis vakası olasılığı akla gelebilir (39).

Mikrobiyolojik Flora	Li,2005 12, n=136(%)	Nicotra,1995 57, n=123 (%)	Pasteur,2000 58, n=150 (%)	Angrill, 2001 53, n=42 (%)
<i>Haemophilus influenzae</i>	53 (40)	37 (30)	52 (35)	11 (26)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15 (11)	38 (31)	46 (31)	4 (9)
<i>Streptococcus pneumonia</i>	23 (18)	13 (11)	20 (13)	6 (14)
<i>Staphylococcus aureus</i>	5 (4)	9 (7)	NA	NA
<i>Moraxella catarrhalis</i>	3 (2)	3 (2)	30 (20)	2 (5)
<i>Nocardia</i>	0	4 (3)	NA	NA
Anaeroblar	1 (1)	2 (1)	NA	NA
<i>Mycobacteria</i>	0	49 (40)	NA	NA

Aspergillus	1 (1)	6 (5)	3 (2)	1 (2)
2 veya daha fazla	21	60	NA	NA

Tablo-12 Bronşektazinin Mikrobiyolojik Özellikler (2)

2.7.4 Solunum Fonksiyon Testi Özellikleri

Bronşektazili olgularda SFT değişiklikleri bronşektaziyi oluşturan altta yatan hastalığa bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Bronşektaziye özgü bir solunum fonksiyon anormallliği yoktur. Bronşektazi tipi ve etkilenen segment sayısı ile SFT bulguları arasında direkt bir ilişki yoktur. Ağır bronşektazililerin SFT' leri kronik bronşit ve amfizemdeki SFT bulgularına benzer ve obstrüksiyon bulguları izlenir. Diffüz tutulumlu bronşektazili hastaların spirometrik incelemesi; obstrüktif hava yolu paterni gösterir ve FVC (forced vital capacity= zorlu vital kapasite) normal veya azalmış, FEV1 (birinci saniyedeki zorlu ekspiratuvar volüm) azalmış, FEV1/FVC oranı azalmıştır. Belirgin atelektazisi, parankimal ve plevral fibrozisi olan olgularda; restriktif veya mikst (restriktif ve obstrüktif patern), FVC azalmış, FEV1/FVC oranı normaldir. Restriksiyonda total akciğer kapasitesi (TLC), Fonksiyonel rezidüel kapasite (FRC) ve Rezidüel Volüm (RV) azalmıştır. Obstrüksiyonda hava hapsi olur ve Rezidüel volüm (RV) artmış, RV/TLC artmıştır (2).

2.7.5 Ayrıcı Tanı

Bronşektazi ile benzer semptom, fizik muayene bulgusu ve radyolojik bulgu veren hastalıklar ile karışabilir. Kesin ayırım için HRCT yapılması gereklidir.

Kronik bronşiyolit, kronik bronşit, amfizem	Bronşektazide olduğu gibi bronşlarda genişleme ortaya çıkar ve dispne, balgam çıkarma, öksürük
---	--

	semptomları benzer olmakla birlikte hava yolu obstrüksiyonu mevcuttu
ABPA	Proksimal bronşları etkiler ve balgam çıkarma özelliği tipik değildir, HRCT çekilmelidir
Bronşitis obliterans organize pnömoni (BOOP)	
Swyer-James-Macleod sendromu	Prodüktif öksürük, dispne, hemoptizi gibi bronşektazi bulguları olur, bir lob veya akciğerde ekspiryumda hava hapsine ve damarlanmada azalmaya bağlı hiperlüsens akciğer
Bronşitis Obliterans	Çocukluğundaki viral veya bakteriyel akciğer enfeksiyonu sonrasında etkilenen akciğer bölümünde gelişme geriliği olması
Pulmoner sekestrasyonlar	Akciğer alt lob bazal segmentlerinen birinde tekrarlayan enfeksiyonlar ve kist oluşumu ile karışabilir

Tablo-13 Bronşektazi Ayrıcı Tanısı

2.8 Bronşektazide Tedavi ve İzlem

Tedavinin hedefleri; semptomların kontrolü, hastalığın progresyonun önlenmesi, atakların önlenmesi ve tedavisi, solunum fonksiyonlarının normale yaklaştırılması, hasta çocuksa optimal büyüme ve gelişmenin sağlanması amaçlanır.

Hastalık nedeni	Tedavisi
Spesifik predispozan faktör	Tespit edilip ortadan kaldırılmalı
Yabancı cisim aspirasyonu varsa veya bronşları tıkaçıcı herhangi bir endobroniyal lezyon varlığı	Bronkoskopik işlem ile endobronşiyal lezyonun tedavisi ve yabancı cismin çıkarılması
İmmünglobülin eksikliği varsa (selektif IgA eksikliği hariç)	Gamaglobülin replasmanı yapılmalı
Bronşların temizlenmesi için	Postüral direnaj gibi solunum fizyoterapisi yöntemleri uygulanmalı
Enfeksiyon varsa	Uygun antibiyotik tedavisi ile kontrol altına alınmalı
Hava yolu obstrüksiyonu varsa	Bronkodilatör veya inhaler kortikosteroid tedavisi uygulanmalı
Enfeksiyonun önlenmesi için	Aşılama yapılmalı (influenza ve pnömokok aşılıarı)
ABPA	Sistemik steroid tedavisi

Tablo-14: Bonşektazide etyolojiye yönelik tedavi

2.8.1. Antibiyotikler

Antibiyotikler, akut atak tedavisinde, atakların önlenmesinde veya bakteriyel yükü azaltmak için kullanılmaktadır. Antibiyotikler ile tedavi sonuçları hastalığın şiddetine göre değişir. Hafif ve orta şiddetli bronşektazi enfeksiyonlarında antibiyotik tedavisi ile tama yakın kür sağlanabilmektedir. Fakat şiddetli enfeksiyonu olanlarda bronşiyal sistemde bakteri kolonizasyonu uzun süre kalabilmektedir. Makrolid ve kinolon gibi akciğer dokusuna yüksek penetrasyonu olan antibiyotikler şiddetli olgularda kullanılabilir. Klinik durumu iyi olmayan veya oral antibiyotiklere cevap vermeyen hastalar hospitalize edilerek intravenöz (IV) antibiyotik ile tedavi edilmelidir (40).

Pseudomonas aeruginosa, birçok antibiyotiğe dirençlidir ancak oral kinolonlara duyarlıdır. Fakat kinolonlar bronşektazi enfeksiyonlarında sık

olarak kullanılırsa direnç gelişimi olabilir (41). Aminoglikozidler ve siprofloksasin de *P. aeruginosa* enfeksiyonları ile komplike olmuş bronşektazi hastalarında kullanılabilir (42).

2.8.2 Mukolitik Tedavi

Mukolitiklerin amacı; hipersekresyonu olanlarda balgamin fizikokimyasal yapısını değiştirmek suretiyle transbronşiyal temizlik yapmaktır (40). Olivieri yaptığı çalışmada bronşektazilerde akut enfeksiyon atağında antibiyotiğe ek olarak bromeksin günde 3 kez 30 mg verilen hastalarda ekspektorasyonun, balgam kalitesinin, niteliğinin ve dinleme bulgularının düzeldiğini bildirmiştir (43). Önceleri KF'li hastalarda denenen rekombinant insan DNase'ı ile non-KF'li hastalarda da çalışmalar yapılmıştır. Wills nebülize rekombinant insan DNase'ı 2 hafta günde 1-2 kez 2.5 mg verildiğinde hastaların bronşektazilerinin stabil kaldığını; fakat spirometre, yaşam kalitesi, dispne ve balgamin siliyer transportunda bir düzelme olmadığını bildirmiştir (44). O'Donnell ve arkadaşları da yaptıkları geniş plasebo kontrollü bir çalışmada; 349 idiopatik bronşektazili hastada 24 hafta 2.5 mg rekombinant insan DNase'ı kullanan hastaların stabil kaldığını, kontrol grubunda pulmoner kötüleşmenin daha fazla olduğunu ve FEV1'de daha fazla azalma olduğunu tespit etmişlerdir (45). Bronşektazide N-asetilsistein ile ilgili yapılmış çalış ma yoktur (40).

2.8.3 Antiinflamatuvar Ajanlar

Bronşektazi transmural enfeksiyon ve mediatör salınımlı inflamasyondur. Bu nedenle antiinflamatuvarların etkinliği de araştırılmıştır. Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) olan hastalar gibi, bronşektazili erişkin ve çocuklar bazen hastanede yatacak kadar şiddetli atak geçirebilir. Etkin tedavi ile bu atakların sıklığı, şiddeti ve/veya akciğer hasarı azaltılabilir. Antiinflamatuvar ilaçlar inflamatuvar döngüyü azaltabilir. Böylece semptomlar düzelir ve akciğer hasarı yavaşlar (46).

2.8.4 Bronkodilatörler

Non-KF'li bronşektazilerde ekspiratuar hava yolu obstrüksiyonunun mekanizması tam açık olmamakla birlikte; aşırı mukus üretimi, bronş duvar

distorsiyonu ve yumuşak dokunun konstrüksiyonunu içerir. Artmış bronşiyal hiperreaktivite ve reversibl hava yolu obstrüksiyonu yaygındır. Bronşektazilerde hava yolu obstrüksiyonu olan hastalarda sıklıkla bronkodilatör kullanılır (40). Kısa etkili ve uzun etkili β 2-antagonistler, antikolinerjikler ve oral metilksantinlerle ilgili çalışmalar yapılmıştır. Fakat nonkistik bronşektazide bronkodilatör kullanımı ile ilgili randomize kontrollü çalışma yoktur. Bu nedenle bu alanda iyi kaliteli çalışmalara ihtiyaç vardır (40).

2.8.5 Bronşiyal Hijyen Teknikleri

Göğüs fizik tedavisinin bir çeşitidir. Akut ve kronik hava yolu hastalıklarında, bronşiyal hijyen tetkiklerinin amacı hastanın sekresyonunu akciğerden atmaktır. Bunun için aktif ya da pasif teknikler vardır. Teknik seçimi hastane ve fizik tedavi uzmanına bağlıdır (47).

2.8.6 Egzersiz

Pulmoner rehabilitasyon ve inspiratuar kasların çalıştırılması ile ilgili bir çalışmada; sadece pulmoner rehabilitasyon uygulanan grupta, pulmoner rehabilitasyon ve inspiratuar kas çalışması uygulanan grup karşılaştırılmış, pulmoner rehabilitasyonun egzersiz toleransını düzelttiği fakat eş zamanlı inspiratuar kas çalışmasının ek yararı olmadığını bildirmişlerdir (48).

2.8.6 Cerrahi Tedavi

Bronşektazi tek taraflı, segmental veya lobar yayılım gösteriyorsa, ilerleyici ise tekrarlayan semptomlar varsa cerrahi tedavi uygulanır. Bronşektazide cerrahinin amacı komplet rezeksiyon ve yaşam kalitesini artırmaktır (49). Bu, iki fizyopatolojiyle açıklanır. Birincisi, fonksiyonunu yitirmiş bronşlardan oluşan akciğer dokusunu uzaklaştırmak, ikincisi de lokalize bronşektazi alanlarını komşu bölge yapısını bozmaması için ortadan kaldırmak (50). Ertürk ve arkadaşları, genç ve cerrahi düşünülen kistik bronşektazili hastalarda iyi bir immünolojik araştırma ile etyolojinin aydınlanmasının faydalı olacağını, çünkü bunların önemli bir kısmında fagositoz ve oksidatif patlama fonksiyonlarında bozukluk olabileceğini vurgulamışlardır (51).

2-GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamız Haziran 2011-Haziran 2012 döneminde 1000 yataklı GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi'nin Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Servisi'nde prospektif ve kontrollü olarak yürütülmüştür. GATA (ANKARA) Etik Kurulu'nun 17.05.2011 tarih ve 1491-48-11/1539-1548 sayılı kararı ile etik onay alınmıştır.

a. Çalışmaya Alınma Kriterleri

Çalışma popülasyonu, çalışma periyodu içinde GATA HEH Göğüs hastalıkları kliniğine radyolojik olarak (HRCT ile) ve klinik olarak bronşektazi tanısı konulup yatırılan, genç erişkin (20-44 yaş arası) yaş grubu hastaları içermektedir. Çalışma dışlama kriterlerini taşımayan (daha önce tüberküloz ve kistik fibrozis tanısı almamış olan, immün sistemi etkileyecek ek bir hastalığı olmayan, tanısal bronkoskopi işlem endikasyonu olan ve işlemi tolere edebilecek) ve gönüllü onam formu alınmış 40 kişi olgu grubu olarak çalışmaya alındı. Yine çalışma grubu ile benzer yaş ve cins özelliklerine sahip, bronkoskopi işlemi yapılmamış endikasyonu olan ve yapılan tetkikler sonucunda hastalığı saptanmayan onam formu alınmış 20 kişi kontrol grubu olarak çalışma kapsamına alındı.

b. Çalışmadan Dışlanma Kriterleri

Tüberküloz ve ASYE geçirmiş olanlar, kistik fibrozis tanısı alan hastalar, immün yetmezlik hastalığı tanısı olanlar, 20 yaşından küçük olan hasta ve kontroller, bronkoskopi işlemi tolere edemeyecek ve işlem için kontrendike olanlar, bronşektazi tanısı konulmayan hastalar, çalışmayı kabul ettiğini gösterir yazılı belge imzalamayan kişiler çalışma kapsamına alınmamıştır.

c. Hastaların Takibi

Kliniğimizde yatarak tedavi gören bronşektazi hastaları yatışından itibaren kayıtları tutuldu. Servisimizde izlenen çalışmaya alınma kriterlerini karşılayan hastaların bilgileri hasta takip formlarına kaydedildi. Demografik bilgiler, semptom ve fizik muayene özellikleri, radyolojik özellikler, tam kan sayımı, sedimentasyon değeri, CRP, C3, C4, IgA, IgE, IgM, IgG değeri kaydedildi. Hastaların ve kontrol grubunun tümüne hastalıklarına ait ayrıntılı anket uygulandı. Tüm bilgiler kayıt edildi.

Hastaların günlük muayenesi esnasında akciğerlerinde matite, ral, ronküs bulgusu saptanması, yeni başlayan pürülan balgam veya balgamın karakterinde değişiklik olması, kan ve balgam kültüründe üreme veya bronkoskopi ile elde edilen materyalde spesifik veya nonspesifik etken izolasyonu gibi bulguların birinin varlığında alevlenme olarak düşünüldü. Buna yönelik hastaların tedavisi başlandı ve bu akut enfeksiyon ve inflamasyonun sonuçlarımızı etkileyebileceği düşünülerek bu hastalar çalışmadan çıkarıldı.

2.1. Serum ve Bronko Alveoler Lavaj Sıvısı Örneklerinde Sitokin Seviyesi Belirleme Çalışması

2.1.1 İncelenen Serum Örneklerinin Toplanması

Hasta ve kontrol gruplarının yatışı sırasında alınan periferik kan örnekleri Hastanemiz Biyokimya laboratuvarında santrifüj edilerek serumlar elde edildi. Bu serum örneklerinde rutin biyokimyasal tetkikler çalışıldı. Serumlar kullanıldıktan sonra atılmadan çalışma gününe kadar Biyokimya kliniğindeki -80 C' de buzdolabında saklandı.

2.1.2. İncelenen Bronko Alveoler Lavaj Sıvısı Örneklerinin Toplanması

Bronkoskopi yapılmasına engel teşkil edecek patoloji saptanmayan hastalara yapılacak olan işlem anlatılarak yazılı izin alındı. Bronkoskopi işlemi endikasyonu bulunan 40 kişilik hasta ve 20 kişilik kontrol grubuna fiberoptik bronkoskop (Olympus BF Type IT30, IT20D) ile topikal anesteziyi takiben oral yoldan bronkoskopi işlemi yapıldı. İşlem sırasında 3-4 L/dk nazal oksijen verildi ve hastalar pulse oksimetriyle takip edildi. Aspirasyondan ve bronkoskop

yoluyla lokal anestezi vermekten kaçınılarak, radyolojik olarak bronşektazinin en fazla olduğu lob veya segment ağzına bronkoskop ilerletildi. Bronkoskopi cihazı ilgili segment ağzına yerleştirildikten sonra, daha önceden vücut ısısına getirilen, steril %0.9'luk NaCl solüsyonundan 20 ml'lik infüzyonlar şeklinde, toplam 5 kez verildi. İnfüzyonun sabit bir hızda yapılmasına dikkat edildi. Her 20 ml'lik infüzyondan sonra hava yolu kollapsına neden olmayacak şekilde negatif basınç uygulanarak aspirasyon yapıldı. Sıvının tamamı verildikten ve aspire edildikten sonra kontroller yapılarak bronkoskopi cihazı çıkarıldı. Bronkoskopi işlemi yapılan hastalardan ve kontrol grubundan işlem sırasında alınan bronko alveoler lavaj sıvısı örnekleri -80 C' de saklandı.

2.1.3. Serum ve Bronko Alveoler Lavaj Sıvısında Sitokin Seviyelerinin ELİSA Yöntemi ile Belirlenmesi

Ticari olarak temin edilen sitokin kitleri ile ve ELİSA yöntemi kullanılarak hem serumda hem BAL' da sitokin seviyeleri çalışıldı. Sitokin seviyelerinin ELİSA yöntemi ile çalışılması şu şekilde yapıldı:

Hastalardan ve kontrol grubundan alınan serum ve BAL sıvısı örnekleri, çalışılacağı güne kadar -80 °C'de saklanmıştı. Çalışma günü olan 28-30.05.2012 tarihinde bu serumlarda ve BAL sıvısı örneklerinde ELISA yöntemi ile IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α seviyeleri belirlendi. Bu çalışmada sitokin seviyeleri temin edilen kitlerin içerisinde belirtilen protokole göre yapıldı.

Hasta ve kontrol grubu serum ve BAL sıvısı örneklerinde ELISA yöntemi ile IL-6, IL-8, IL-10 ve TNF- α seviyesinin belirlenmesi şu şekilde yapıldı:

Human IL-6 ELISA KİTİ (Assaypro marka Katalog No:EI1006-1)

- Örnek ve standartlardan 50 μ l mikrolaka kuyucuklarına pipetlendi.
- 2 saat oda ısısında inkübe edildi
- CIOM marka mikrolaka yıkayıcısında 200 μ l yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkama yapıldı
- 50 μ l biotinylated IL-6 antikoru her kuyucuğa eklendi

- 2 saat oda ısısında inkübe edildi
- CIOM marka mikrolaka yıkayıcısında 200 µl yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkama yapıldı
- 50 µl streptavidin-peroxidase conjugate her kuyucuğa eklendi
- 30 dakika oda ısısında inkübe edildi
- CIOM marka mikrolaka yıkayıcısında 200 µl yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkama yapıldı
- 50 µl chromogen substrate her kuyucuğa eklendi
- 12 dakika oda ısısında inkübe edildi
- 50 µl stop solüsyonu her kuyucuğa eklendi
- GF-M3000 mikrolaka okuyucusunda 450 nm de okuma yapılarak absorbans değerleri elde edildi.
- Standartlar log-log grafiğe koyularak standart eğrisi elde edildi ve hasta sonuçları bu eğriye göre hesaplandı.



Şekil 17: Çalışmamızda kullanılan GF-M3000 mikrolaka okuyucusu

Human IL-8 ELİSA KİTİ (Assaypro marka, Katalog No:EI1008-1)

- Örnek ve standartlardan 50 µl mikrolaka kuyucuklarına pipetlendi.
- 2 saat oda ısısında inkübe edildi
- CIOM marka mikrolaka yıkayıcısında 300 µl yıkama solüsyonu ile 6 kez yıkama yapıldı
- 50 µl biotinylated IL-8 antikoru her kuyucuğa eklendi
- 2 saat oda ısısında inkübe edildi

- CIOM marka mikrolaka yıkayıcısında 300 µl yıkama solüsyonu ile 6 kez yıkama yapıldı
- 50 µl streptavidin-peroxidase conjugate her kuyucuğa eklendi
- 30 dakika oda ısısında inkübe edildi
- CIOM marka mikrolaka yıkayıcısında 300 µl yıkama solüsyonu ile 6 kez yıkama yapıldı
- 50 µl chromogen substrate her kuyucuğa eklendi
- 15 dakika oda ısısında inkübe edildi
- 50 µl stop solüsyonu her kuyucuğa eklendi
- GF-M3000 mikrolaka okuyucusunda 450 nm de okuma yapılarak absorbans değerleri elde edildi.
- Standartlar log-log grafiğe koyularak standart eğrisi elde edildi ve hasta sonuçları bu eğriye göre hesaplandı.

Human IL-10 ELISA KİTİ (Assaypro marka, Katalog No: EI3010-1)

- Örnek ve standartlardan 50 µl mikrolaka kuyucuklarına pipetlendi.
- 2 saat oda ısısında inkübe edildi
- CIOM marka mikrolaka yıkayıcısında 200 µl yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkama yapıldı
- 50 µl biotinylated IL-10 antikoru her kuyucuğa eklendi
- 2 saat oda ısısında inkübe edildi
- CIOM marka mikrolaka yıkayıcısında 200 µl yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkama yapıldı
- 50 µl streptavidin-peroxidase conjugate her kuyucuğa eklendi
- 30 dakika oda ısısında inkübe edildi
- CIOM marka mikrolaka yıkayıcısında 200 µl yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkama yapıldı
- 50 µl chromogen substrate her kuyucuğa eklendi
- 15 dakika oda ısısında inkübe edildi
- 50 µl stop solüsyonu her kuyucuğa eklendi
- GF-M3000 mikrolaka okuyucusunda 450 nm de okuma yapılarak absorbans değerleri elde edildi.

- Standartlar log-log grafiğe koyularak standart eğrisi elde edildi ve hasta sonuçları bu eğriye göre hesaplandı.

Human TNF- α ELISA KİTİ (Assaypro marka, Katalog No:ET2010-1)

- Örnek ve standartlardan 50 μ l mikrolaka kuyucuklarına pipetlendi.
- 2 saat oda ısısında inkübe edildi
- CIOM marka mikrolaka yıkayıcısında 200 μ l yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkama yapıldı
- 50 μ l biotinylated TNF-alpha antikoru her kuyucuğa eklendi
- 2 saat oda ısısında inkübe edildi
- CIOM marka mikrolaka yıkayıcısında 200 μ l yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkama yapıldı
- 50 μ l streptavidin-peroxidase conjugate her kuyucuğa eklendi
- 30 dakika oda ısısında inkübe edildi
- CIOM marka mikrolaka yıkayıcısında 200 μ l yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkama yapıldı
- 50 μ l chromogen substrate her kuyucuğa eklendi
- 20 dakika oda ısısında inkübe edildi
- 50 μ l stop solüsyonu her kuyucuğa eklendi
- GF-M3000 mikrolaka okuyucusunda 450 nm de okuma yapılarak absorbans değerleri elde edildi.
- Standartlar log-log grafiğe koyularak standart eğrisi elde edildi ve hasta sonuçları bu eğriye göre hesaplandı.

2.2. Serum Örneklerinde Genetik Polimorfizm Belirleme Çalışması

2.2.1. Kandan DNA İzolasyonu

Hasta ve kontrol grubundan yatışları sırasında tam kan sayımı için EDTA lı tüplere alınan kanlar Hastanemiz Biyokimya laboratuvarında -80' de

saklanmıştı. Çalışma sırasında kanlar buzdolabından çıkarılarak oda sıcaklığında çözülmeye bırakıldı. Kandan DNA izolasyonu için NucleoSpin Blood (Mavherey-Nagel) Ekstraksiyon kiti kullanıldı.

1. EDTA içeren tüplerden 200 µl kan örneği alınarak 1.5 ml'lik ependorf tüplerine konuldu.
2. Kan örneklerinin üzerine, 25 µl proteinaz K enzimi eklendi. Üzerine 200 µl B3 solüsyonu eklendi.
3. Ependorf tüplerinin ağızları kapatılarak tüpler vortekslendi. Üstte kalan sıvı kısım alttaki pelete dokunulmadan atıldı.
4. Örnekler 70 °C`de 15 dakika inkübe edildi.
5. İnkübasyon sonunda tüplerin üzerine 210 µl etanol ilave edildi.
6. Ependorf tüplerinin içerikleri NucleoSpin Blood kolonlarına aktarıldı.
7. Tüpler 11000 g'de 1 dakika santrifüj edildi.
8. Kolonun üst kısmındaki DNA içeren kısmı yeni bir tüpe aktarıldı ve üzerine 500 µl BW ilave edildi. Tüpler yine 11000 g'de 1 dakika santrifüj edildi.
9. Kolonun üst kısmındaki DNA içeren kısmı yeni bir tüpe aktarıldı ve üzerine 600 µl B5 ilave edildi. Tüpler yine 11000 g'de 1 dakika santrifüj edildi.
10. Kolonlardaki alkolü tamamen uzaklaştırabilmek için 1 dk. 11000 g' de kolonlar tekrar santrifüj edildi.
11. DNA içeren kolonun üst kısmı steril bir ependorf tüpünün üzerine alındı ve 70 C' de bekletilen BE solüsyonundan 150 µl kolonların üzerine eklendi.
12. 1 dk. bekledikten sonra üzerinde kolon bulunan ependorf tüpler 11000 g' de 1 dk santrifüj edildi.
13. İzole edilen DNA ependorfun içerisine aktarılmış oldu. Böylelikle DNA ekstraksiyon işlemi tamamlanmış oldu.

2.2.2. DNA Miktarlarının Ölçülmesi

Elde edilen DNA örnekleri polimeraz zincir reaksiyonuna (PZR) reaksiyonuna konulması gereken miktarların belirlenmesi için hastanemiz Moleküler Patoloji Laboratuvarında bulunan NANODROP yöntemi ile ölçüldü. DNA miktar ve saflığının belirlenmesi için 260 ve 280 nm'lerdeki absorbans

değerleri dikkate alınarak DNA miktarları ng/μl cinsinden değerlendirildi ve her bir PZR konulacak olan miktar μl cinsinden belirlendi.

Şekil-18: Çalışmamızda kullanılan Nanodrop cihazı ile DNA ölçümü

2.2.3. PRİMERLER

Genotipleme;

-IL-6 geninin -174 G / C promotor bölgesinde SNP

-IL-8 geninin - 251 A / T promotor bölgesinde SNP

-IL-10 geninin -1082 G/A, -819 C/T, -592 C/A promotor bölgesinde bir SNP geni polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) ve DNA Dizi analizi ile tespit edildi.

Bu çalışmada kullanılan primer seti aşağıda listelenmiştir:

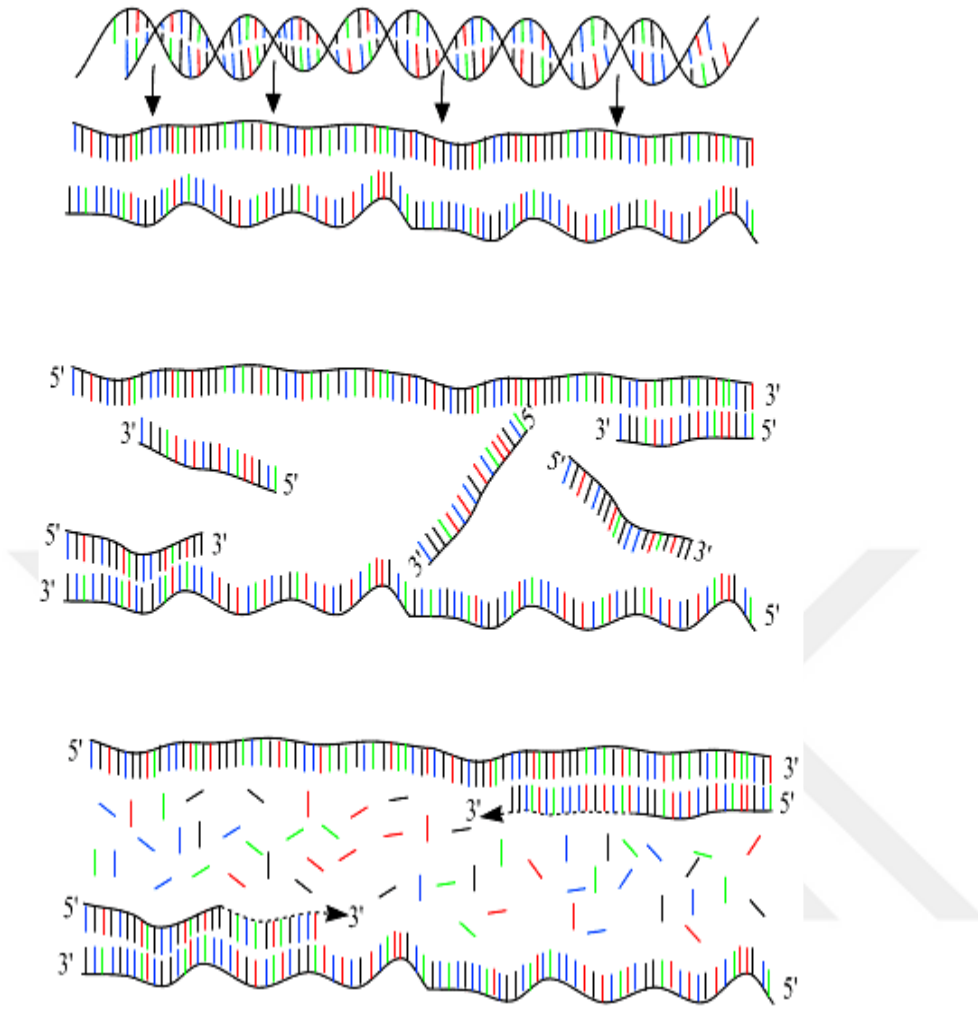
IL-6 Forward primer (FWD)	5'AGCGCTAGCCTCAATGACGAC3'
IL-6 Reverse primer (REV)	5'GCGGGTGGGGCTGATTGGAA3'
IL-8 FWD	5'CTTGTTCTAACACCTGCCACTC 3'
IL-8 REV	5'GGCAAACCTGAGTCATCACA 3'
IL10-FWD	5'ATCCAAGACAACACTACTAA 3'
IL10-REV	5'TAAATATCCTCAAAGTTCC 3'
TNF -FWD	5'TTCCTGCATCCTGTCTGGAA 3'
TNF -REV	5'CAGCGGAAACTTCCTTGGT 3'

Tablo 15: Çalışmamızda kullanılan sitokinlerin genlerine ait primerler

2.2.4. POLİMERAZ ZİNCİR REAKSİYONU (PZR)

Saiki ve arkadaşları tarafından geliştirilen PZR yöntemi, ilgilenilen gen bölgesinin, bu gene özgül olarak tasarlanmış primerlerinin kullanılmasıyla, uygun reaksiyon koşullarında in vitro olarak çoğaltılmasına dayanır (Saiki et al., 1986). PZR yöntemi, reaksiyon karışımına eklenen ve ısıya dayanıklı bir DNA polimerazın katalizörlüğünde gerçekleşir (Mullis et al., 1987). PZR için gerekli olan maddeler; ısıya dayanıklı bir enzim olan Taq DNA polimeraz, deoksiribonükleotidtrifosfatlar (dNTPs), primerler, kalıp DNA ve magnezyum içeren PZR tamponudur. Reaksiyonun gerçekleştiği ısı döngüleyici aletin uygulayacağı program, çalışılan bölgenin özelliklerine göre ayarlanmaktadır.

PZR reaksiyonu, reaksiyon karışımına üç farklı sıcaklığın döngüsel olarak 20-30 kez uygulanması ile gerçekleşir. Bu döngü üç basamaktan oluşur:



Şekil-19: PCR Aşamaları

1. Denatürasyon: 94°C gibi yüksek bir sıcaklıkta ikili sarmal halinde bulunan DNA zincirlerini bir arada tutan hidrojen bağlarının kırılarak, denatüre olması sağlanır.
2. Primer Eslesmesi (Annealing): Bu basamakta, çoğaltılmak istenen gen bölgesine özgü sentezlenen oligonükleotid primerler kalıp DNA zinciri üzerinde eşleniği olduğu bölgeye bağlanır. Primerlerin hidrojen bağı oluşturarak DNA zincirine bağlanması için gerekli sıcaklığın derecesi, kullanılan primer dizisine özgüdür. Bu sıcaklık derecesi T_m olarak adlandırılır. Sıcaklığın değişkenliği primer dizisinin baz içeriğine göre değişir. Primerdeki G ve C sayısı arttıkça T_m derecesi de artar.

3. Zincir Uzaması (Extension): Zincir uzaması, 72°C'de optimum seviyede çalışan ve primerlerin 3' ucuna dNTP'leri ekleyerek, kalıp DNA'nın kopyasını oluşturan Taq DNA polimeraz enziminin 5'....3' polimerizasyon aktivitesiyle gerçekleşir.

Üç basamaktan oluşan bu döngüler, arka arkaya birçok kez tekrarlanırken, her bir döngünün ürünü bir sonraki sentez için kalıp olarak kullanıldığından, bir sonraki döngüdeki DNA'nın miktarı bir öncekinin iki katıdır. İL-6, İL-8, İL-10 ve TNF- α geninin promotor bölgesini çoğaltmak için uygulanan PZR reaksiyonları, 50 μ l toplam hacimde, 100 ng DNA örneği kullanılarak ve aşağıda belirtilen PZR karışımı hazırlanarak gerçekleştirilmiştir:

Kalıp DNA	100 ng
Primer (4 pmol/ μ l):	5 μ l
10X PCR tamponu [200 mM Tris-HCl (PH 8.4), 500 mM KCl]	5 μ l
MgCl ₂	50 mM
Platinum ® Taq DNA Polimeraz	0,25 μ l
TOPLAM	50 μ l

Tablo 16: Çalışmamızda bakılan sitokinlerin geninin promotor bölgesini çoğaltmak için uygulanan PZR karışımı

Şekil-20: Çalışmamızda kullanılan PCR cihazı

Hazırlanan örnekler DNA çift zincirinin açılması, olası proteaz kontaminasyonunun önlenmesi ve ekzonükleaz aktivitesinin ortadan kaldırılması için 94°C'de 4 dakika denatüre edildi. Daha sonra sıcaklık, kullanılan primer çiftleri için uygun programlama yapılarak gerçekleştirildi.

94°C	30 saniye	1 döngü
50°C	40 saniye	
72°C	50 saniye	

Tablo 17: Primer çifti için uygulanan PCR programı:

En son döngüden sonra, yarım kalan reaksiyonların tamamlanması için 72°C`de 5 dakika polimerizasyon gerçekleştirildi.

2.2.5. PZR Amplifikasyonu (çoğaltılması)

PZR amplifikasyonu protokolü için gerçekleştirildi:

- 50 °C oda ısısında 10 dakika x (UNG herhangi bir kontamine PCR ürünleri parçalar),
- 94 °C x 30 sn - 1 döngü (N-glikozilaz inaktif ve Taq DNA polimeraz aktive eder),
- 94 °C x 30 s
- , 30 sn 58 °C (IL 6), 55 ° C (IL8), 53 ° C (IL10)
- 72 °C x 10 dakika son uzatma takiben 42 döngü.

PCR programlanabilir bir termal döngü gradyan PCR sistemi (Eppendorf AG, Hamburg, Almanya) ile yapıldı.

2.2.6. Amplifikasyon Ürünlerinin Agaroz Jel Elektrofrez ile İncelenmesi

114 bp (IL6), 222 bp (IL8) ve 588 bp (IL10) ve PCR ürünleri etidiyum bromid boyama ve ultraviyole görselleştirmenin ardından % 2 agaroz jel elektrofrez ile analiz edildi.

2.2.7. PCR ürünün saflaştırılması

PCR ürünleri PureLink ® PCR saflaştırma kiti (Invitrogen Life Technologies, ABD) kullanılarak saflaştırılmıştır.

2.2.8. Otomatik DNA Dizi (Sekans) Analizi

Otomatik DNA dizi analizi, Sanger yönteminde kullanılan dideoksiribonükleotidlerin her birinin farklı renkteki bir floresan etiketle işaretlenmesi yolu ile gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemde, farklı renklerde işaretlenmiş dNTP'lerin dördü de aynı reaksiyon tüpüne koyulur. Reaksiyon

tamamlandıktan sonra meydana gelen renkli DNA fragmentleri, kapiler tüp içine doldurulan elektroforez kolon materyali içerisinde, lazer ışığı verilen bir pencereden geçerek ayrıştırılır (a).

Şekil-21: Çalışmamızda kullandığımız DNA sekans analizatör cihazı

Bu tez çalışmasında, amplifiye olmuş (saflaştırılmış) PZR ürünleri DNA dizi analizi ABI 3730 Genetic DNA Sequencer Analyzer makinası ile gerçekleştirildi. Saflaştırılmış PZR ürünleri ABI-3730 (48 kapillerli) DNA Sequencer (Applied Biosystems) üzerinde, ticari üreticinin ürünün içeriğinde belirtmiş olduğu protokole göre BigDye® Terminator V3.1 Cycle Sequencing kiti (Applied Biosystems, USA) ile dizi analizleri yapıldı. Veriler ABI Dizi Analizi Yazılımı yardımıyla incelendi.

Daha önceden PZR temizleme kiti kullanılarak saflaştırılmış olan amplifikasyon ürünlerinin otomatik DNA dizi analizi reaksiyonu, BigDye® Terminator V3.1 DNA Dizi analizi kitinin kullanma yöntemi doğrultusunda aşağıda belirtilen şekilde hazırlanmıştır:

Sekans Karışımı:

BigDye® reaksiyon karışımı: 8 µl

Primer (10 pmol/µl): 0.5 µl

PZR ürünü: 5 µl

sdH₂O: 6.5 µl

TOPLAM: 20 µl

ABI 3730 BigDye® PZR Reaksiyon Programı:

96 °C	1 dk	30 Döngü
96 °C	10 sn	
50 °C	5 sn	
60 °C	4 dk	

Döngüler tamamlandıktan sonra sekans ürünleri, sodyum asetat yöntemi ile saflaştırılmıştır.

İki yönlü dizisi izleri Mutasyon Surveyor (Softgenetics, sürüm 3.10) ve manuel inceleme ile analiz edildi.

2.2.9. Sekans Reaksiyonu Sonrası safadex ile Pürifikasyon

Sekans reaksiyonunun otomatik sekans aletinin kapiler elektroforez sisteminde yürütülmesinden önce son bir saflaştırma işlemi daha yapılmaktadır. Sekans sonrası saflaştırma işlemi, aşağıdaki basamaklar takip edilerek gerçekleştirilmiştir:

1. 14 ml saf su içinde 1gr safadex sulandırıldı. 30 dk buzdolabında +4 C de bekletildi.
2. Spin purification columnna 750 µl safadex koyuldu.
3. 5200 rpm devirde 2 dk santrifüj edildi.
4. Amplifikasyon ürününün tamamı safadexli kolonlara aktarıldı.
5. 5200 rpm devirde 2 dk santrifüj edildi.
6. Santrifüj sonrası ürün kapiler sistemiyle uyumlu ABI 3730 platelaerine aktarıldı.
7. Örnekler otomatik DNA dizi analizi cihazına yüklenerek yürütüldü.

3. İSTATİSTİK

Hasta ve kontrol gruplarının serum ve BAL sıvısı örneklerindeki IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α düzeylerinin karşılaştırıldı. İstatistiksel analizler için SPSS 13.0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (Ortalama, standart sapma, medyan, frekans, oran) yanı sıra

verilerin karşılaştırılmasında Mann Whitney U test ve Independent Samples t test kullanıldı. Kolmogorov – Smirnov test ile değişkenlerin normal dağılıp dağılmadığı tespit edildi ve normal dağılan değişkenler için Independent Samples t test, normal dağılmayan değişkenler için Mann Whitney U test kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-Kare testi kullanıldı. Korelasyon analizinde Pearson korelasyon test kullanıldı. Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık $p<0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

Bu çalışma; 40 kişilik hasta grubu ve 20 kişilik kontrol grubu olmak üzere toplam 60 kişi (kurumsal yapının özelliğinden dolayı çoğu genç erişkin ve erkek olan hastalar) ile yapılmıştır.

1-Bronşektazili hastaların ve kontrol grubunun demografik özelliklerinin karşılaştırılması

a-) Yaş Durumu

Hasta grubunda 33 kişi 20–25 yaş grubunda (% 82,5) , 3 kişi 26–30 yaş grubunda (%7,5) ve 4 kişi de 30 yaş üstü grubunda (% 10) yer almaktadır. Hasta grubunun yaş ortalaması $23,04\pm4,62$ (20-38) yıl idi. Kontrol grubunda ise 19 kişi 20–25 yaş grubunda (% 95) , 1 kişi ise 26–30 yaş grubunda (%5) yer almaktadır. Kontrol grubunun yaş ortalaması $23,04\pm2,62$ (20-32) yıl idi. Yaş ortalaması bakımından hasta grubu ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

Yaş		Frekans (f)	Yüzde (%)
Hasta	20–25	33	82,5
	26–30	3	7,5
	> 30	4	10
	Toplam	40	100
Kontrol	20–25	19	95

	26–30	1	5
	Toplam	20	100

Tablo: Hasta ve kontrol grubunun yaş durumları

b-) Eğitim Düzeyi

Hasta grubunda 2 kişi okumamış (% 5) , 15 kişi ilköğretim okulunu bitirmiş (% 37,5) ve 14 kişi lise mezunu (% 35), 6 kişi yüksekokul mezunu (% 15) ve 3 kişi üniversite mezunu (% 7.5) grubunda yer almaktadır. Kontrol grubunda ise 2 kişi okumamış (% 10) , 12 kişi ilköğretim okulu (% 60) ve 6 kişi lise mezunu (% 30) grubunda yer almaktadır. Hasta ve kontrol grubu arasında eğitim düzeyi bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

Eğitim		N	%
Hasta	Okumamış	2	5
	İÖÖ	15	37,5
	Lise	14	35
	Yüksekokul	6	15
	Üniversite	3	7,5
	Toplam	40	100
Kontrol	Okumamış	2	10
	İÖÖ	12	60
	Lise	6	30
	Toplam	20	100

Tablo: Hasta ve kontrol grubunun eğitim durumları

c-) Gelir Düzeyi

Hasta grubunda 23 kişi düşük gelir düzeyi (% 57.5) , 15 kişi orta gelir düzeyi (% 37,5) ve 2 kişi iyi gelir düzeyi (% 5) grubunda yer almaktadır. Kontrol grubunda ise 9 kişi düşük gelir düzeyi (% 45) , 10 kişi orta gelir düzeyi (% 50) ve 1 kişi iyi gelir düzeyi (% 5) grubunda yer almaktadır. Hasta ve kontrol grubu arasında gelir düzeyi bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

Gelir Düzeyi		N	%
Hasta	Düşük	23	57,5
	Orta	15	37,5
	İyi	2	5
	Toplam	40	100
Kontrol	Düşük	9	45
	Orta	10	50
	İyi	1	5
	Toplam	20	100

Tablo: Hasta ve kontrol grubunun gelir düzeyi durumları

d-) Sigara kullanma alışkanlıkları

Hasta grubunda 27 kişi halen sigara içiyor veya 5 yıl/paketten uzun süreyle sigara içmiş (% 67.5) , 13 kişi sigara içmemiş veya 5 yıl/paketten kısa süreyle sigara içmiş (% 32,5) grubunda yer almaktadır. Kontrol grubunda 18 kişi halen sigara içiyor veya 5 yıl/paketten uzun süreyle sigara içmiş (% 90) , 2 kişi sigara içmemiş veya 5 yıl/paketten kısa süreyle sigara içmiş (% 10) grubunda yer almaktadır. Hasta ve kontrol grubu arasında sigara içme durumu bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

	Sigara Alışkanlığı		Toplam
	İçmiyor veya 5 p/y dan kısa sürelili içmiş	İçiyor veya 5 p/y dan uzun sürelili içmiş	
Hasta Grubu	13 %32,5	27 %67,5	40
Kontrol Grubu	2 %10	18 %90	20
Toplam	15	45	60

Tablo: Hasta ve kontrol grubunun sigara içme alışkanlığı durumları

2-Bronşektazili hastaların ve kontrol grubunun Semptom ve Fizik muayene Bulgularının karşılaştırılması

a-) Semptomlar

Hastaların semptomlarına bakıldığında; balgam çıkarma hepsinde (% 100), nefes darlığı 34' ünde (%85), göğüs ağrısı 11' inde (% 28,2), öksürük 37' sinde (% 92.5), hemoptizi 4' ünde (%10) mevcut idi. Kontrol grubunda ise 14' ünde (% 70) hemoptizi, 2' sinde (% 10) göğüs ağrısı, 3' ünde (% 15) nefes darlığı ve öksürük 1'inde (% 5) mevcut olup balgam çıkarma şikayeti hiçbirinde yoktu. Bizim olgularımızda görülen üç semptom (balgam çıkarma, öksürük ve nefes darlığı) kontrol grubu ile kıyaslandığında hasta grubunda daha sık görülmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($p<0,001$). Aynı zamanda hemoptizi şikayeti de kontrol grubunda hasta grubundan daha sık görülmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($p<0,001$).

Hasta Grubu		Kontrol Grubu		P
Var	Yok	Var	Yok	

Göğüs Ağrısı	11 %28,2	28 %71,8	2 %10	18 %90	0,11
Nefes Darlığı	34 %85	6 %15	3 %15	17 %85	<0,001
Balgam Çıkarma	40 %100	0	0	20 %100	<0,001
Öksürük	37 %92,5	3 %7,5	1 %5	19 %95	<0,001
Hemoptizi	4 %10	36 %90	14 %70	6 %30	<0,001

Tablo: Hasta ve kontrol grubunun semptom sıklığı durumları

b-) Fizik muayene Bulguları

Hastaların bulgularına bakıldığında; wheezing 25' inde (% 62.5), ral 9' unda (% 22.5), ronküs 29' unda (%72.5), çomak parmak 16' sında (% 40) mevcut idi. Hastaların hiçbirinde ateş bulgusuna rastlanmadı. Kontrol grubunun hiçbirinde fizik muayene bulgusu yoktu. Bizim olgularımızda saptanan muayene bulguları (wheezing, ronküs, çomak parmak ve ral) kontrol grubu ile kıyaslandığında hasta grubunda daha sık görülmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($p<0,001$ ve $p=0,021$). Hasta ve kontrol grubunda ateş bulgusu saptanmadığından istatistiki olarak anlamsızdı.

Hasta Grubu		Kontrol Grubu		P
Var	Yok	Var	Yok	

Wheezing	25 %62,5	15 %37,5	0	20 %100	<0,001
Ral	9 %22,5	31 %77,5	0	20 %100	0,021
Ronküs	29 %72,5	11 %27,5	0	20 %100	<0,001
Ateş	0	40 % 100	0	20 %100	anlamsız

Tablo: Hasta ve kontrol grubunun fizik muayene bulgularının durumları

3- Bronşektazili Hastaların ve Kontrol Grubunun Sistemik ve Lokal İnflamasyon Belirteç Düzeylerinin Karşılaştırılması:

a-) Hasta ve kontrol grubunun kan beyaz küre sayısı (Wbc), lökosit subgrupları, saatlik eritrosit sedimentasyon hızı (ESR), C- Reaktif Protein (CRP) Düzeylerinin Karşılaştırılması:

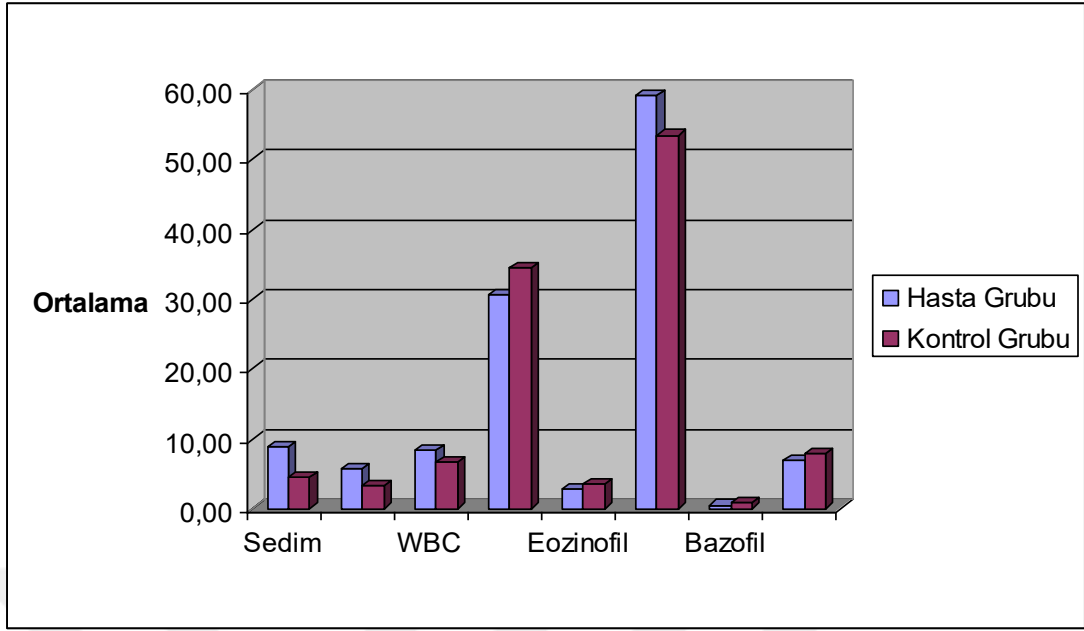
Hasta ve kontrol grubunun CRP düzeyi değerlendirildiğinde (tablo- ve şekil- görüldüğü gibi); hasta grubunda CRP düzeyi yüksek olan hasta sayısı 7 (%17,5) ve CRP düzeyi ortalaması $5,77 \pm 6,41$ mg/L iken kontrol grubunda ise CRP düzeyi yüksekliği saptanmadı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptandı ($p < 0.05$).

Hasta grubunda saatlik eritrosit sedimentasyon hızı (ESR) düzeyi yüksek olan hasta sayısı 3 (%7,5) ve ESR düzeyi ortalaması $8,85 \pm 7,35$ mm/h iken kontrol grubunda ise ESR düzeyi yüksekliği saptanmadı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0.05$).

Kan beyaz küre sayısına ve % cinsinden lökosit subgruplarına bakıldığında hasta ve kontrol grubunda nötrofil, lenfosit, eozinofil oranı yüksekliği saptanmadı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Bazofil ve monosit yüzdesi hasta grubunda ortalama olarak bakıldığında daha yüksek oranda (bazofil % $0,51\pm0,29$, monosit % $6,87\pm1,82$) saptandı. Ancak hasta ve kontrol grubunda bazofil ve monosit yüksekliği olan kişiler mevcut değildi. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptandı ($p<0.05$).

Değerlendirme Grupları			
	Hasta Grubu n=40	Kontrol Grubu n=20	P
	Ort±SD	Ort±SD	
Sedimentasyon (0-15 mm/h)	8,85±7,35	4,40±3,84	0,050
CRP (0-8 mg/L)	5,77±6,41	3,24±2,14	0,020
WBC ($4-10,5 \times 10^3/\text{UL}$)	8,27±2,87	6,67±1,78	0,170
Lenfosit % (20,5-51,1)	30,52±8,97	34,43±6,28	0,136
Eozinofil % (0,5-11)	2,87±1,98	3,55±2,22	0,186
Nötrofil % (37-73)	51,23±10,32	53,47±6,74	0,057
Bazofil % (0-2)	0,51±0,29	0,91±0,53	0,003
Monosit % (3-11)	6,87±1,82	7,81±1,69	0,030

Tablo: Hasta ve kontrol grubunun Wbc, lökosit subgrupları (nötrofil, eozinofil, bazofil, lenfosit, monosit), ESR ve CRP düzeyleri



Şekil 22: Hasta ve kontrol grubunun Wbc, lökosit subgrupları (nötrofil, eozinofil, bazofil, lenfosit, monosit), ESR ve CRP düzeylerinin görünümü.

b-) Hasta ve kontrol grubunun Humoral immünite belirteçleri olan IgA, IgM, IgG, IgE Düzeylerinin Karşılaştırılması:

İmmünglobülin seviyelerine bakıldığında (tablo- ve şekil- görüldüğü gibi); hasta grubunda IgA düzeyi yüksekliği saptanmadı. IgA düzeyi düşük olan hasta sayısı 9 (%22,5) ve ortalaması $1,03 \pm 1,10$ g/L iken kontrol grubunda ise IgA düzeyi düşüklüğü ve yüksekliği saptanmadı ve IgA düzeyi ortalaması $1,9 \pm 0,72$ g/L saptandı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptandı ($p < 0,05$).

Hasta grubunda IgG düzeyi düşük olan hasta sayısı 6 (% 15) ve IgG düzeyi yüksek olan hasta sayısı 5 (%12,5) ortalaması $12,48 \pm 5,04$ g/L iken kontrol grubunda ise IgG düzeyi düşüklüğü ve yüksekliği saptanmadı ve IgG düzeyi ortalaması $11,93 \pm 2,04$ g/L saptandı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0,05$).

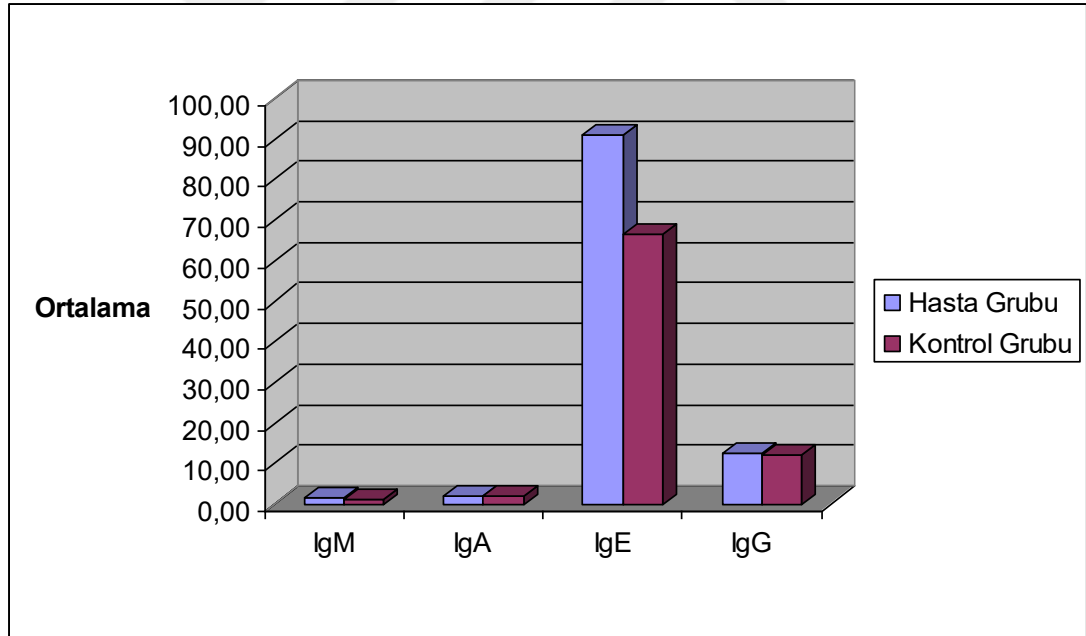
Hasta grubunda IgE düzeyi düşük hasta saptanmamış olup IgE düzeyi yüksek olan hasta sayısı 3 (%7,5) ve ortalaması $90,80 \pm 117,58$ IU/ml iken kontrol grubunda ise IgE düzeyi düşüklüğü ve yüksekliği saptanmadı ve IgE

düzeyi ortalaması 66,25±54,24 IU/ml saptandı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (p>0.05).

Hasta ve kontrol grubunda IgM düzeyi düşük ve yüksek kişi saptanmamış olup IgM düzeyi ortalaması hasta grubunda 1,56±1,02 g/L iken kontrol grunda IgM düzeyi ortalaması 1,07±0,50 g/L saptandı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (p>0.05).

Değerlendirme Grupları			
	Hasta Grubu n=40	Kontrol Grubu n=20	P
	Ort±SD	Ort±SD	
IgM (0,46-3,049 g/L)	1,56±1,02	1,07±0,50	0,110
IgA (0,8-4,5 g/L)	1,03±1,10	1,9±0,72	0,040
IgE (0-165 IU/mL)	90,80±117,58	66,25±54,24	0,689
IgG (7,5-15,6 g/L)	12,48±5,04	11,93±2,04	0,654

Tablo: Hasta ve kontrol grubunun IgA, IgM, IgG, IgE düzeyleri



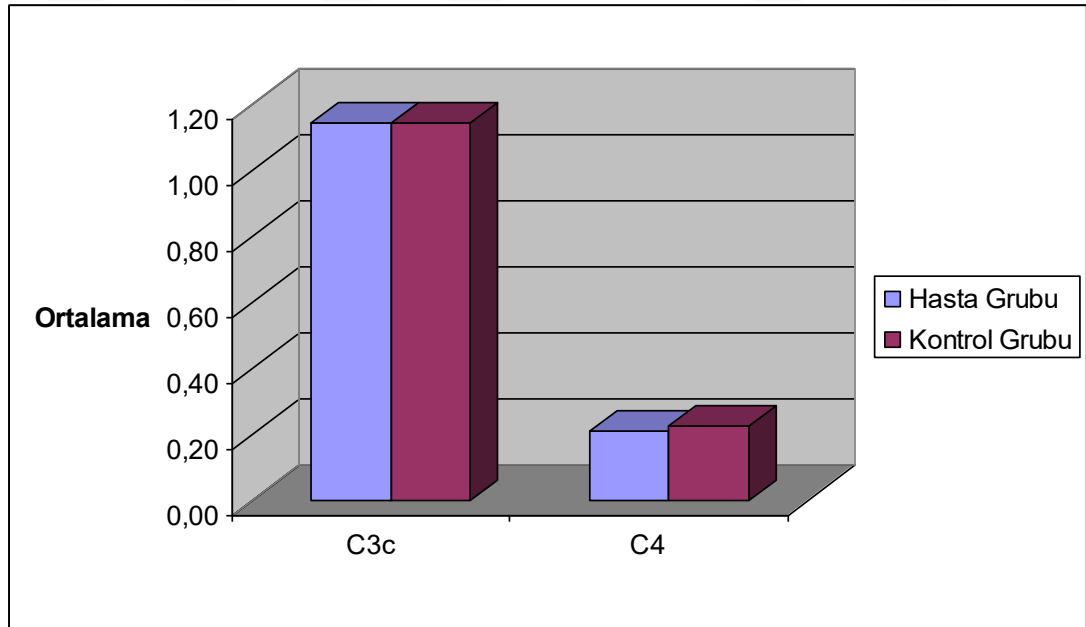
Şekil 23: Hasta ve kontrol grubunun IgA, IgM, IgG, IgE düzeylerinin görünümü

c-) Hasta ve kontrol grubunun Kompleman (C3, C4) Düzeylerinin Karşılaştırılması:

Hasta ve kontrol grubunda C3b düzeyi düşüklüğü ve yüksekliği saptanmadı ve C3b düzeyi ortalaması hasta grubunda $1,14 \pm 0,22$ g/L saptandı. Kontrol grubunda $1,14 \pm 0,21$ g/L saptandı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0,05$). Hasta grubunda C4 düzeyi düşük olan hasta sayısı 16 (% 40) ve C4 düzeyi yüksek olan hasta sayısı 2 (%5) ortalaması $0,21 \pm 0,10$ g/L iken kontrol grubunda ise C4 düzeyi düşüklüğü ve yüksekliği saptanmadı ve C4 düzeyi ortalaması $0,22 \pm 0,05$ g/L saptandı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0,05$).

Değerlendirme Grupları			
	Hasta Grubu n=40	Kontrol Grubu n=20	P
	Ort±SD	Ort±SD	
C3c (0,79-1,52 g/L)	$1,14 \pm 0,22$	$1,14 \pm 0,21$	0,848
C4 (0,16-0,38 g/L)	$0,21 \pm 0,10$	$0,22 \pm 0,05$	0,051

Tablo: Hasta ve kontrol grubunun Kompleman (C3b ve C4) düzeyleri



Şekil 24: Hasta ve kontrol grubunun Kompleman (C3b ve C4) düzeylerinin görünümü

d-) Hasta ve kontrol grubunda Proinflamatuvar Sitokinlerin (İL-6, İL-8, TNF- α) ve Antiinflamatuvar sitokinlerin (İL-10) Serumdaki Düzeylerinin Karşılaştırılması:

Proinflamatuvar sitokinlerden İL-6' nın serum seviyelerine bakıldığında (tablo- ve şekil- görüldüğü gibi); hasta grubunda serum İL-6 düzeyi yüksekliği olan kişi sayısı 16 (% 40) ve İL-6 düzeyi ortalaması $0,02 \pm 0,03$ ng/ml iken kontrol grubunda ise İL-6 düzeyi düşüklüğü ve yüksekliği saptanmadı ve İL-6 düzeyi ortalaması $0,01 \pm 0,00$ ng/ml saptandı. Hasta grubunun serum İL-6 düzeyi kontrol grubuna göre yüksek olmasına rağmen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0.05$).

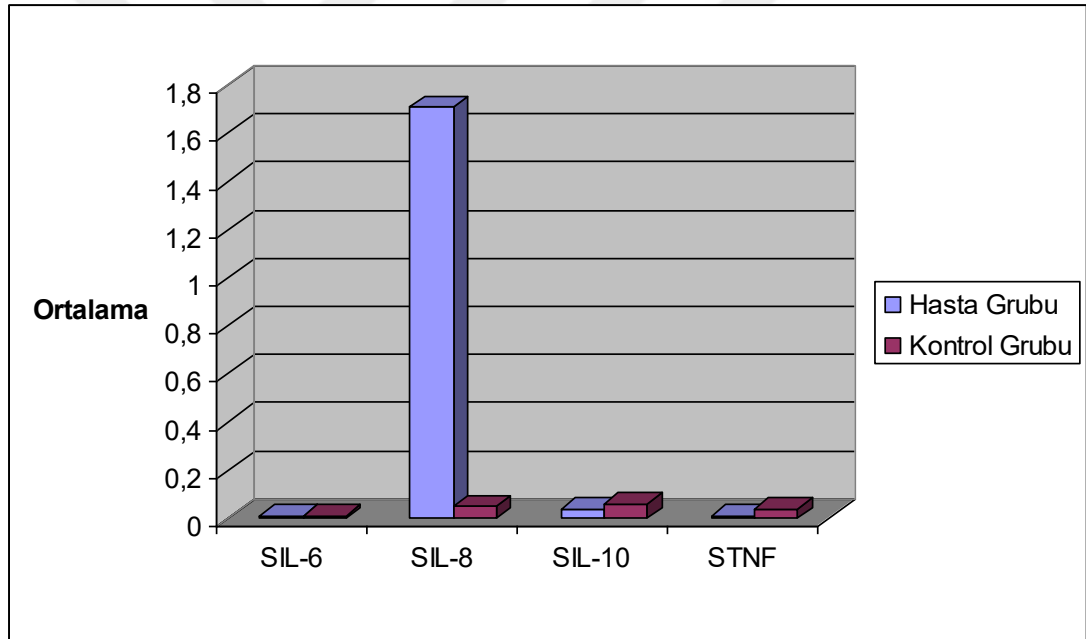
İL-8' in serum seviyelerine bakıldığında; hasta grubunda serum İL-8 düzeyi yüksekliği olan kişi sayısı 31 (% 77,5) ve İL-8 düzeyi ortalaması $1,01 \pm 0,05$ ng/ml olup hasta grubunun serum İL-8 düzeyi kontrol grubuna göre yüksek saptandı. Kontrol grubunda ise İL-8 düzeyi düşüklüğü ve yüksekliği saptanmadı ve İL-8 düzeyi ortalaması $0,05 \pm 0,09$ ng/ml saptandı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptandı ($p < 0.05$).

İL-10' un serum seviyelerine bakıldığında; hasta grubunda serum İL-10 düzeyi yüksekliği saptanmadı. Serum İL-10 düzeyi düşük olan kişi sayısı 25 (% 62,5) ve İL-10 düzeyi ortalaması $0,03 \pm 0,02$ ng/ml olup hasta grubunun serum İL-10 düzeyi kontrol grubuna göre düşük saptandı. Kontrol grubunda ise İL-10 düzeyi düşüklüğü ve yüksekliği saptanmadı ve İL-10 düzeyi ortalaması $0,06 \pm 0,08$ ng/ml saptandı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptandı ($p < 0.05$).

TNF- α ' nın serum seviyelerine bakıldığında; hasta grubunda serum TNF- α düzeyi yüksekliği olan kişi sayısı 8 (% 20) ve TNF- α düzeyi ortalaması $0,01 \pm 0,01$ ng/ml iken kontrol grubunda ise TNF- α düzeyi düşüklüğü ve yüksekliği saptanmadı ve TNF- α düzeyi ortalaması $0,04 \pm 0,14$ ng/ml saptandı. Hasta grubunun serum TNF- α düzeyi kontrol grubuna göre yüksek olmasına rağmen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p > 0.05$).

	Hasta Grubu n=40	Kontrol Grubu n=20	P
	Ort±SD	Ort±SD	
Serum IL-6 (0,016-1 ng/ml)	0,02±0,03	0,01±0,00	0,944
Serum IL-8 (0,016-1 ng/ml)	1,01±0,05	0,05±0,09	0,001
Serum IL-10 (0,125-8 ng/ml)	0,03±0,02	0,06±0,08	0,014
Serum TNF-α (0,015-1 ng/ml)	0,01±0,01	0,04±0,14	0,120

Tablo: Hasta ve kontrol grubunun Proinflamatuvar Sitokin (İL-6, İL-8, TNF-α) ve Antiinflamatuvar sitokinlerin (İL-10) Serum Düzeyleri



Şekil 25: Hasta ve kontrol grubunun Proinflamatuvar Sitokin (İL-6, İL-8, TNF-α) ve Antiinflamatuvar sitokinlerin (İL-10) Serum Düzeyleri

e-) Hasta ve kontrol grubunda Proinflamatuvar Sitokinlerin (İL-6, İL-8, TNF-α) ve Antiinflamatuvar sitokinlerin (İL-10) BAL Sıvısındaki Düzeylerinin Karşılaştırılması:

İL-6' nın BAL Sıvısındaki seviyelerine bakıldığında (tablo- ve şekil- görüldüğü gibi); hasta grubunda BAL sıvısı İL-6 düzeyi yüksekliği olan kişi sayısı 6 (% 15) ve İL-6 düzeyi ortalaması $0,01\pm0,03$ ng/ml iken kontrol grubunda ise İL-6 düzeyi düşüklüğü ve yüksekliği saptanmadı ve İL-6 düzeyi ortalaması $0,01\pm0,002$ ng/ml saptandı. Hasta grubunun serum İL-6 düzeyi kontrol grubuna göre yüksek olmasına rağmen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

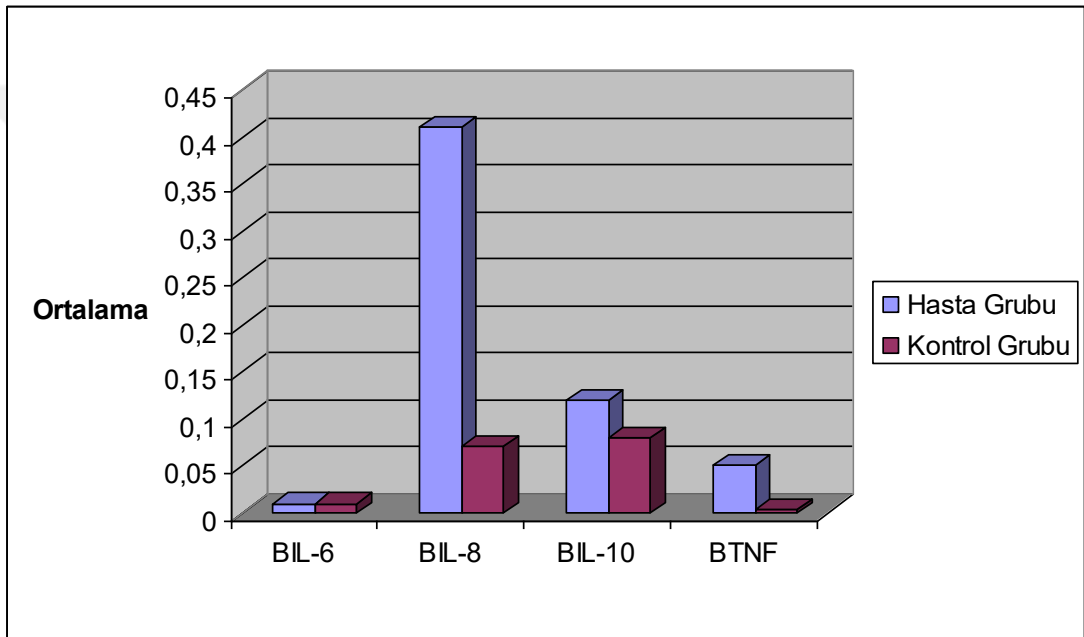
İL-8' in BAL Sıvısındaki seviyelerine bakıldığında; hasta grubunda İL-8 düzeyi yüksekliği olan kişi sayısı 29 (% 72,5) ve İL-8 düzeyi ortalaması $0,41\pm0,44$ ng/ml olup hasta grubunun BAL Sıvısı İL-8 düzeyi kontrol grubuna göre yüksek saptandı. Kontrol grubunda ise İL-8 düzeyi düşüklüğü ve yüksekliği saptanmadı ve İL-8 düzeyi ortalaması $0,07\pm0,17$ ng/ml saptandı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptandı ($p<0.05$).

İL-10' un BAL Sıvısındaki seviyelerine bakıldığında; hasta grubunda BAL Sıvısı İL-10 düzeyi yüksekliği saptanmadı. İL-10 düzeyi düşük olan kişi sayısı 24 (% 60) ve İL-10 düzeyi ortalaması $0,08\pm0,07$ ng/ml olup hasta grubunun BAL Sıvısı İL-10 düzeyi kontrol grubuna göre düşük saptandı. Kontrol grubunda ise İL-10 düzeyi düşüklüğü ve yüksekliği saptanmadı ve İL-10 düzeyi ortalaması $0,12\pm0,07$ ng/ml saptandı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptandı ($p<0.05$).

TNF- α ' nın BAL Sıvısı seviyelerine bakıldığında; hasta grubunda TNF- α düzeyi yüksekliği olan kişi sayısı 18 (% 45) ve TNF- α düzeyi ortalaması $0,05\pm0,17$ ng/ml iken kontrol grubunda ise TNF- α düzeyi düşüklüğü ve yüksekliği saptanmadı ve TNF- α düzeyi ortalaması $0,03\pm0,04$ ng/ml saptandı. Hasta grubunun BAL Sıvısı TNF- α düzeyi kontrol grubuna göre yüksek olmasına rağmen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

Değerlendirme Grupları			
	Hasta Grubu n=40	Kontrol Grubu n=20	P
	Ort±SD	Ort±SD	
BAL IL-6	0,01±0,03	0,01±0,002	0,164
BAL IL-8	0,41±0,44	0,07±0,17	0,001
BAL IL-10	0,08±0,07	0,12±0,07	0,045
BAL TNF-α	0,05±0,17	0,03±0,04	0,186

Tablo: Hasta ve kontrol grubunun Proinflamatuvar Sitokin (İL-6, İL-8, TNF-α) ve Antiinflamatuvar sitokinlerin (İL-10) BAL Sıvısı Düzeyleri



Şekil 26: Hasta ve kontrol grubunun Proinflamatuvar Sitokin (İL-6, İL-8, TNF-α) ve Antiinflamatuvar sitokinlerin (İL-10) BAL Sıvısı Düzeylerinin Görünümü

4. Tek Nükleotid Polimorfizmi Sonuçları

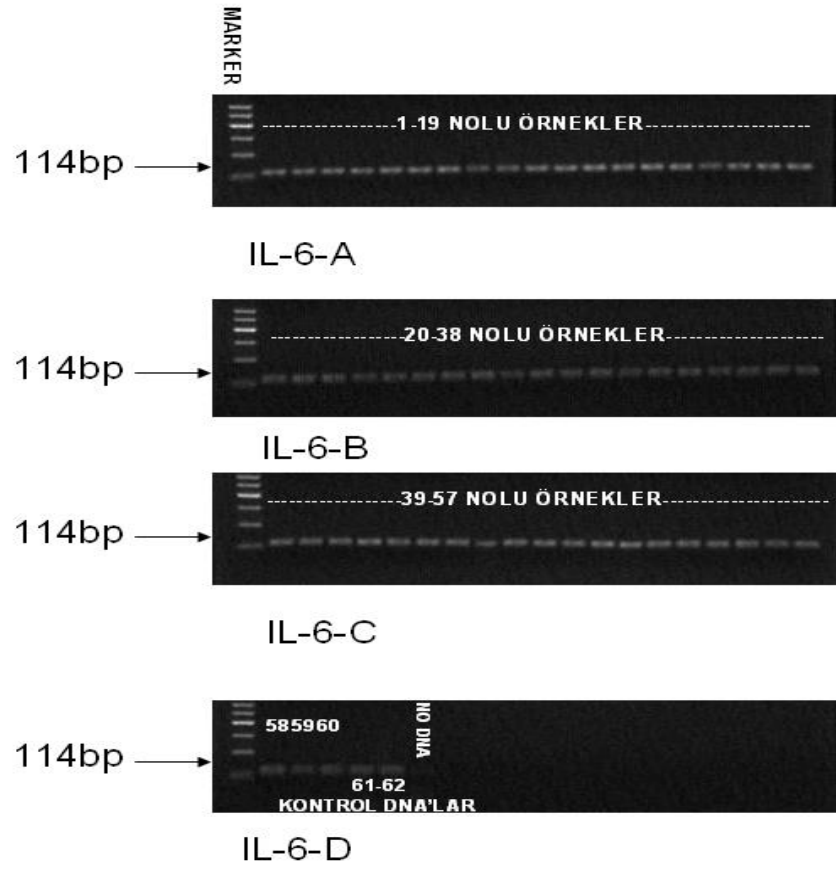
Sitokin salınımından sorumlu gen bölgelerindeki tek nükleotid polimorfizmlerinin moleküler yöntemlerle araştırılmasında DNA dizi (sekans) analizi için Sanger yöntemi kullanıldı. Bu yöntemde iki adet allel spesifik ve bir adet genel primer kullanılarak hasta ve sağlıklı kontrol gruplarından elde edilen toplam 60 kişiye ait DNA'lardan sitokinlerin İL-6 -174 G/C, İL-8 -161 C/A, İL-8 -251 A/T, İL-10 -592 C/A, İL-10 -819 C/T, İL-10 -1082 G/A ve TNF-α -308 G/A, TNF-α 238 G/A promotor bölgelerinden polimorfizmler belirlendi. İL-6, İL-

8, İL-10 ve TNF- α sitokin genlerinin promotor bölgelerindeki SNP' lerin tek tek genotipik dağılımları ve aynı zamanda İL-6, İL-8, İL-10 ve TNF- α allel sistemi, Hardy-Weinberg dengesi kullanılarak elde edildi.

4.1. İL-6 Geni Promoter -174 G/C Tek Nükleotid Polimorfizmi Sonuçları

İL-6 geni promoter -174 G/C tek nükleotid polimorfizm varlığını araştırmak için otomatik DNA dizi analiz yöntemi kullanıldı. IL-6 -174 G/C promotor bölgesi SNP 114-bp ürünün dizi analizi ve jel elektroforezdeki görünümü Şekil- de gösterilmiştir.

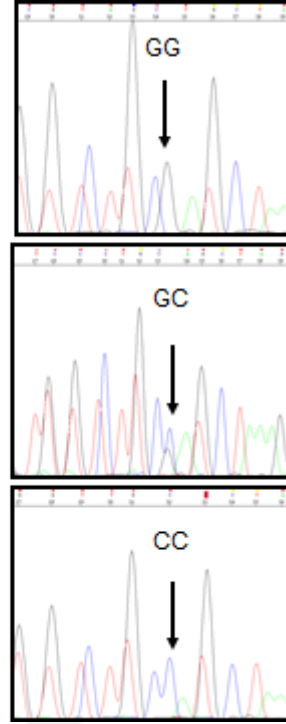
Heterozigot olma durumu G/C ile tanımlanıp dizi analizinde çift pik olarak görülür iken homozigot olma durumu G/G ve C/C ile tanımlanır ve tek bir pik olarak görülür (şekil). SNP için allel ve genotip frekansları Tablo 1'de özetlenmiştir. Hasta ve kontrol gruplarının İL-6 -174 promotor bölgesindeki genotip G/C sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı. ($p < 0,05$).



Şekil 27: İL-6' a ait hasta ve kontrol grubunun jel elektroforez görüntüleri. İL-6 5' uç bölgesinin primerleri kullanılarak elde edilen 114 bp uzunluktaki PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görünümü

Interleukin-6 174G/C Promoter Polymorphism

Interleukin-6 174G/C Promoter Polymorphism



Şekil 28: IL-6' nın -174 G / C polimorfizminin Genotiplemesi. Üç farklı genotiplinin bir revers primer kullanılarak elde edilen PCR-amplifiye ürününün dizi analizi yöntemi ile gösterilmesi.

İL-6 -174	HASTA % n=40	KONTROL % n=20	P
GENOTİP			
G/G	22 (55)	7 (35)	0,144
G/C	6 (15)	9 (45)	0,011
C/C	12 (30)	4	0,409
G/G+G/C	28	16	0,409
C/C+G/C	18	13	0,144
ALLEL			
C	24 (30)	17 (42.5)	0,174
G	56 (70)	23 (57.5)	0,174

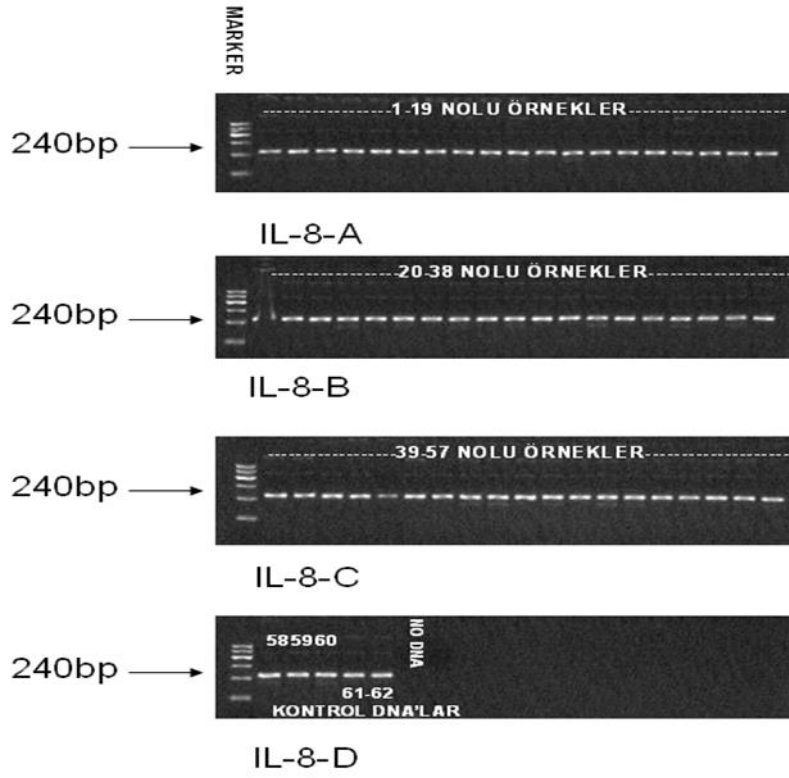
Tablo: İL-6 -174 G/C promotor bölgesindeki polimorfizmin genotip ve alel sayıları

İL-6 -174 G/C için hasta ve kontrol grubunda genotip ve allel frekansları:
G/G ; hastalardan 22' sinde (% 55) ve kontrol grubunda 7' sinde (% 35),
G/C ; hastalardan 6' sinde (% 15) ve kontrol grubunda 9' unde (% 45),
C/C ; hastalardan 12' sinde (% 30) ve kontrol grubunda 4' ünde (% 20) idi. G
allel frekansı hastalarda % 70 ve kontrol grubunda % 57.5 ve C allel frekansı
hastalarda % 30 ve kontrol grubunda % 42.5 idi. (tabloda görüldüğü gibi).

4.2. İL-8 Geni Promotor -161C/A ve -251 –A/T Tek Nükleotid Polimorfizm Sonuçları

İL-8 geni promotor 161C/A ve ve -251 –A/T tek nükleotid polimorfizm varlığını araştırmak için otomatik DNA dizi analizi yöntemi kullanıldı. İL-8 -161C/A ve İL-8 -251 –A/T promotor bölgesi SNP 240-bp ürünün dizi analizi ve jel elektroforezdeki görünümü Şekil- de gösterilmiştir.

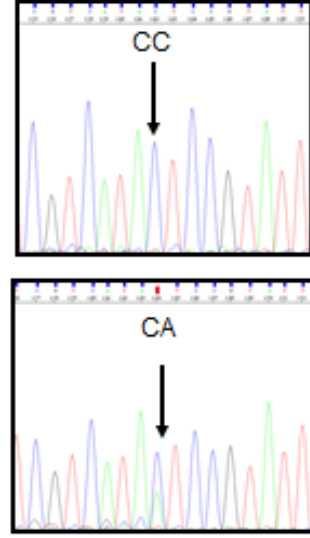
Heterozigot olma durumu İL-8 -161 için C/A ile İL-8 -251 için A/T ile tanımlanıp dizi analizinde çift pik olarak görülür iken homozigot olma durumu İL-8 -161 için A/A ve C/C ile ve İL-8 -251 için A/A ve T/T ile tanımlanır ve tek bir pik olarak görülür (şekil). SNP için allel ve genotip frekansları Tablo 1'de özetlenmiştir. Hasta ve kontrol gruplarının İL-8 -161 ve İL-8 -251 promotor bölgesindeki genotip sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. ($p > 0,05$).



Şekil 29: İL-8' e ait hasta ve kontrol grubunun jel elektroforez görüntüleri. İL-8 5' uç bölgesinin primerleri kullanılarak elde edilen 240 bp uzunluktaki PZR ürünlerinin agaroz jeldeki görünümü

Interleukin-8 161C/A Promoter Polymorphism

Interleukin-8 161C/A Promoter Polymorphism



Şekil 30: IL-8' in -161 C/A polimorfizminin genotiplemeşi. İki farklı genotiplinin bir revers primer kullanılarak elde edilen PCR-amplifiye ürünün dizi analizi yöntemi ile gösterilmesi.

İL-8 -161	HASTA % n=40	KONTROL n=20	P
GENOTİP			
A/A	0	0	-
A/C	14 (35)	9 (45)	0,453
C/C	26 (65)	11 (55)	0,453
A/A+A/C	14	9	0,453
C/C+A/C	40	20	-
ALLEL			
C	66 (82.5)	31 (77.5)	0,512
A	14 (17.5)	9 (22.5)	0,512

Tablo: İL-8 -161 A/C promotor bölgesindeki polimorfizmin genotip ve alel sayıları

İL-8 -161 A/C için hasta ve kontrol grubunda genotip ve alel frekansları;
A/A hasta ve kontrol grubunda genotipine rastlanmadı.

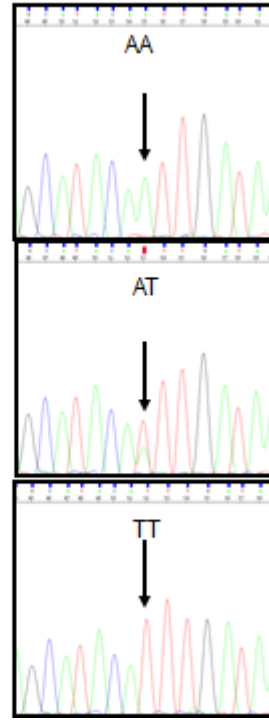
A/C ; hastalardan 14' ünde (% 35) ve kontrol grubunda 9' unda (% 45)

C/C ; hastalardan 26' sinde (% 65) ve kontrol grubunda 11' inde (% 55) idi.

C alel frekansı hastalarda % 82.5 ve kontrol grubunda % 77.5 ve A alel frekansı hastalarda % 17.5 ve kontrol grubunda % 22.5 idi. (tablo).

Interleukin-8 251A/T Promoter Polymorphism

Interleukin-8 251A/T Promoter Polymorphism



Şekil 31: IL-8' in -251 A/T polimorfizminin genotiplemesi. Üç farklı genotipinin bir revers primer kullanılarak elde edilen PCR-amplifiye ürünün dizi analizi yöntemi ile gösterilmesi.

İL-8 -251	HASTA % n=40	KONTROL % n=20	P
GENOTİP			
A/A	7 (17.5)	2 (10)	0,443
T/A	24 (60)	9 (45)	0,271
T/T	9 (22.5)	9 (45)	0,073
A/A+T/A	31	11	0,073
T/T+T/A	33	18	0,443
ALLEL			
T	42 (52.5)	27 (67.5)	0,117
A	38 (47.5)	13 (32.5)	0,117

Tablo: İL-8 -251 A/T promotor bölgesindeki polimorfizmin genotip ve alel sayıları

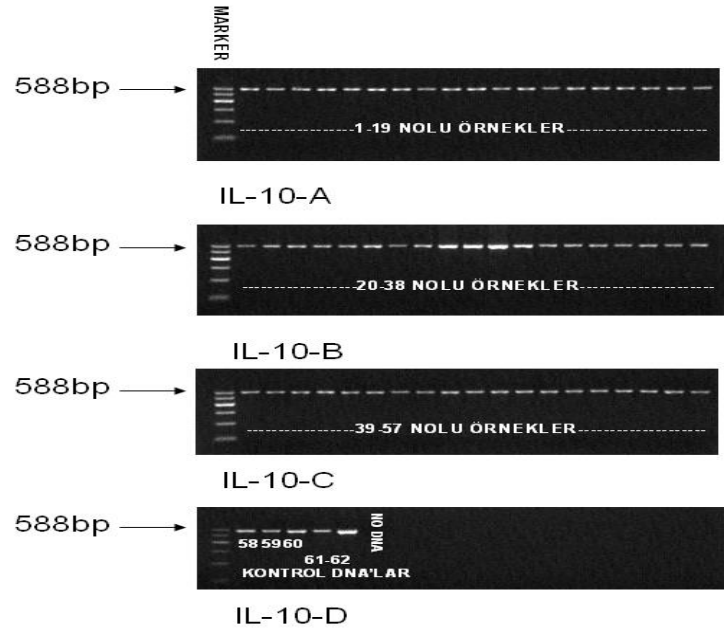
İL-8 -251 A/T için hasta ve kontrol grubunda genotip ve allel frekansları;

A/A ; hastalardan 7' sinde (% 17.5) ve kontrol grubunda 2' sinde (% 10)
A/T ; hastalardan 24' ünde (% 60) ve kontrol grubunda 9' unda (% 45)
T/T ; hastalardan 9' unda (% 22.5) ve kontrol grubunda 9' unda (% 45) idi.
A allel frekansı hastalarda % 47.5 ve kontrol grubunda % 32.5 ve T allel frekansı hastalarda % 52.5 ve kontrol grubunda % 67.5 idi. (tablo).

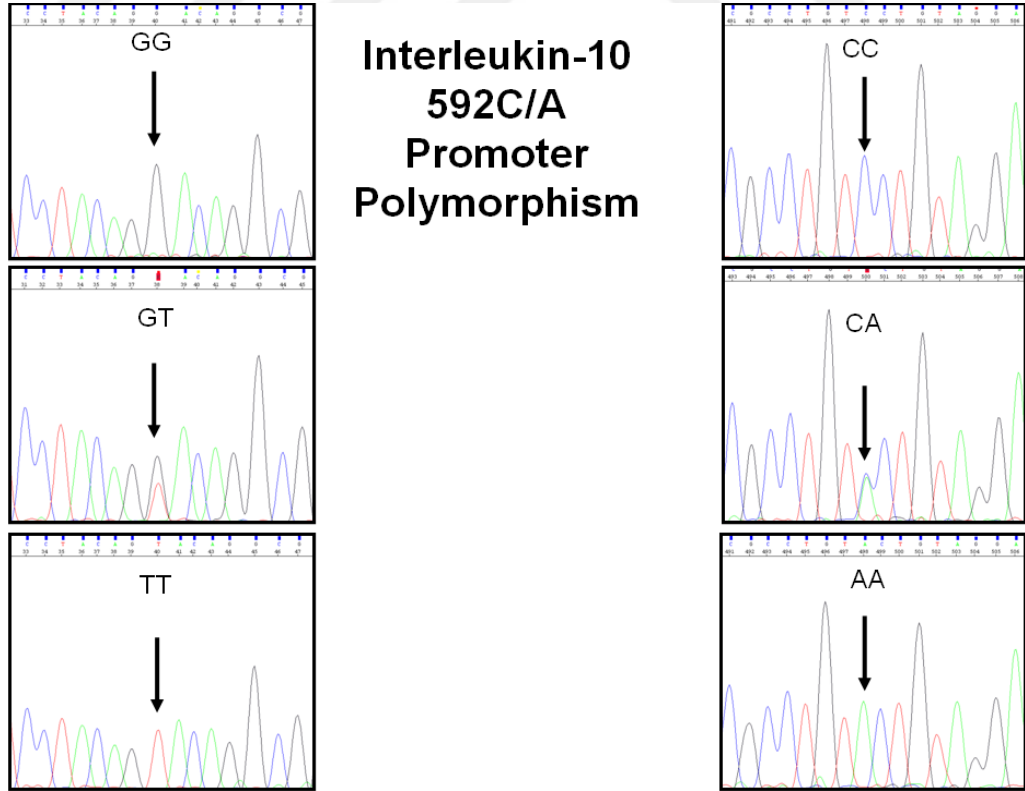
4.3. İL-10 Geni Promotor -592 C/A, -819 C/T ve -1082 G/A Tek Nükleotid Polimorfizmi Sonuçları

İL-10 geni promotor -592 C/A, -819 C/T ve -1082 G/A tek nükleotid polimorfizm varlığını araştırmak için otomatik DNA dizi analizi yöntemi kullanıldı. İL-10 geni -592 C/A, -819 C/T ve -1082 G/A promotor bölgesi SNP 588-bp ürünün dizi analizi ve jel elektroforezdeki görünümü Şekil- de gösterilmiştir.

Heterozigot olma durumu İL-10 -592 için C/A ile -819 için C/T ile -1082 için G/A ile tanımlanıp dizi analizinde çift pik olarak görülür iken homozigot olma durumu İL-10 -592 için A/A ve C/C ile ve İL-10 -819 için C/C ve T/T ile -1082 için G/G ve A/A ile tanımlanır ve tek bir pik olarak görülür (şekil). SNP için allel ve genotip frekansları Tablo 1'de özetlenmiştir. Hasta ve kontrol gruplarının İL-10 -592 promor bölgesindeki genotip A/C sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır. ($p < 0,05$). Hasta ve kontrol gruplarının İL-10 -819 promor bölgesindeki genotip T/C sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark vardır ($p < 0,05$). Hasta ve kontrol gruplarının İL-10 -1082 promotor bölgesindeki genotip sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. ($p > 0,05$).



Şekil 32: İL-10' a ait hasta ve kontrol grubunun jel elektroforez görüntüleri. İL-10 5' uç bölgesinin primerleri kullanılarak elde edilen 588 bp uzunluktaki PCR ürünlerinin agaroz jeldeki görünümü

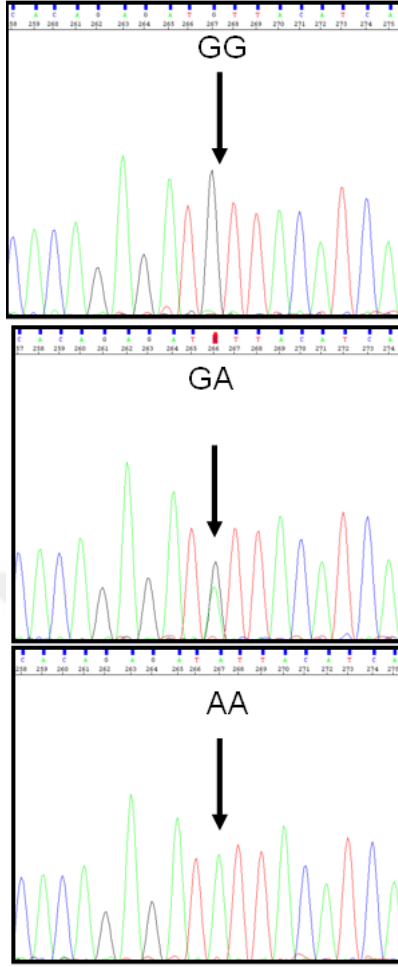


Şekil 33: IL-10' un -592 C/A polimorfizminin genotiplemesi. Üç farklı genotipinin bir revers primer kullanılarak elde edilen PCR-amplifiye ürünün dizi analizi yöntemi ile gösterilmesi.

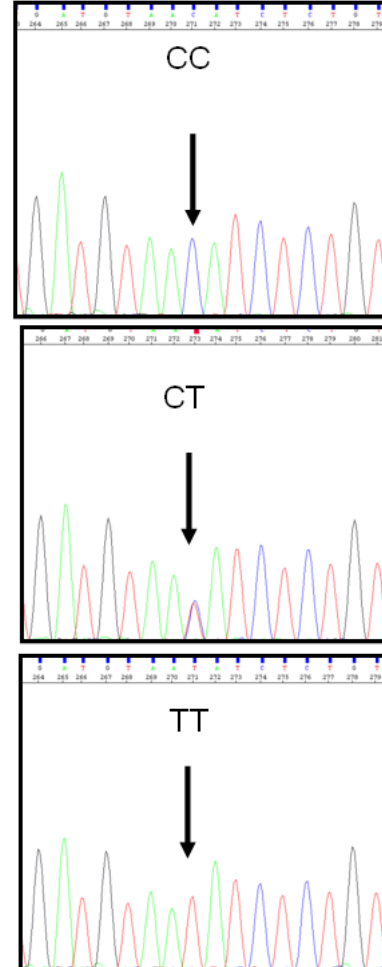
İL-10 -592	HASTA % n=40	KONTROL % n=20	P
GENOTİP			
A/A	6 (15)	5 (25)	0,345
A/C	19 (47.5)	3 (15)	0,014
C/C	15 (37.5)	12 (60)	0,099
A/A+A/C	25	8	0,099
C/C+A/C	34	15	0,345
ALLEL			
C	49 (61.25)	27 (67.5)	0,503
A	31 (38.75)	13 (32.5)	0,503

Tablo: İL-10 -592 promor bölgesindeki polimorfizmin genotip ve alel sayıları

İL-10 -592 A/C için hasta ve kontrol grubunda genotip frekansları;
A/A ; hastalardan 6' sında (% 15) ve kontrol grubunda 5' inde (% 25)
A/C ; hastalardan 19' unda (% 47.5) ve kontrol grubunda 3' ünde (% 15)
C/C ; hastalardan 15' unda (% 37.5) ve kontrol grubunda 12' sinde (% 60) idi.
A allel frekansı hastalarda % 38.75 ve kontrol grubunda % 32.5 ve C allel frekansı hastalarda % 61.25 ve kontrol grubunda % 67.5 idi. (tablo).



Interleukin-10 819C/T Promoter Polymorphism



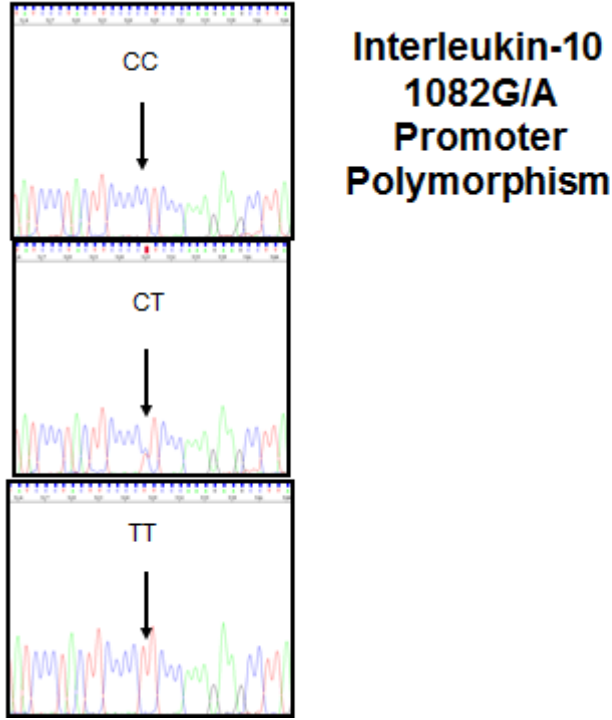
Şekil 34: IL-10' un -819 C/T polimorfizminin genotiplemesi. Üç farklı genotipinin bir revers primer kullanılarak elde edilen PCR-amplifiye ürününün dizi analizi yöntemi ile gösterilmesi.

İL-10 -819	HASTA % n=40	KONTROL % n=20	P
GENOTİP			
T/T	6 (15)	5 (25)	0,345
T/C	19 (47.5)	4 (20)	0,039
C/C	15 (37.5)	11 (55)	0,197
T/T+T/C	25	9	0,197
C/C+T/C	34	15	0,345
ALLEL			
C	49 (61.25)	26 (65)	0,689
T	31 (38.75)	14 (35)	0,689

Sekil-5 İL-10 -819 promor bölgesindeki polimorfizmin genotip ve alel sayıları

İL-10 -819 T/C için hasta ve kontrol grubunda genotip ve allel frekansları;
T/T ; hastalardan 6' sında (% 15) ve kontrol grubunda 5' inde (% 25)
T/C ; hastalardan 19' unda (% 47.5) ve kontrol grubunda 4' ünde (% 20)
C/C ; hastalardan 15' inde (% 37.5) ve kontrol grubunda 11' inde (% 55) idi.
T allel frekansı hastalarda % 38.75 ve kontrol grubunda % 35 ve C allel frekansı hastalarda % 61.25 ve kontrol grubunda % 65 idi. (tablo).

Interleukin-10 1082G/A Promoter Polymorphism



Şekil 35: IL-10' un -1082 G/A polimorfizminin genotiplemesi. Üç farklı genotipinin bir revers primer kullanılarak elde edilen PCR-amplifiye ürünün dizi analizi yöntemi ile gösterilmesi.

İL-10 -1082	HASTA % n=40	KONTROL % n=20	P
GENOTİP			
G/G	3 (7.5)	0	0,209

A/G	14 (35)	12 (60)	0,065
A/A	23 (57.5)	8 (40)	0,201
G/G+A/G	17	12	0,201
A/A+A/G	37	20	0,209
ALLEL			
G	20 (25)	12 (30)	0,559
A	60 (75)	28 (70)	0,559

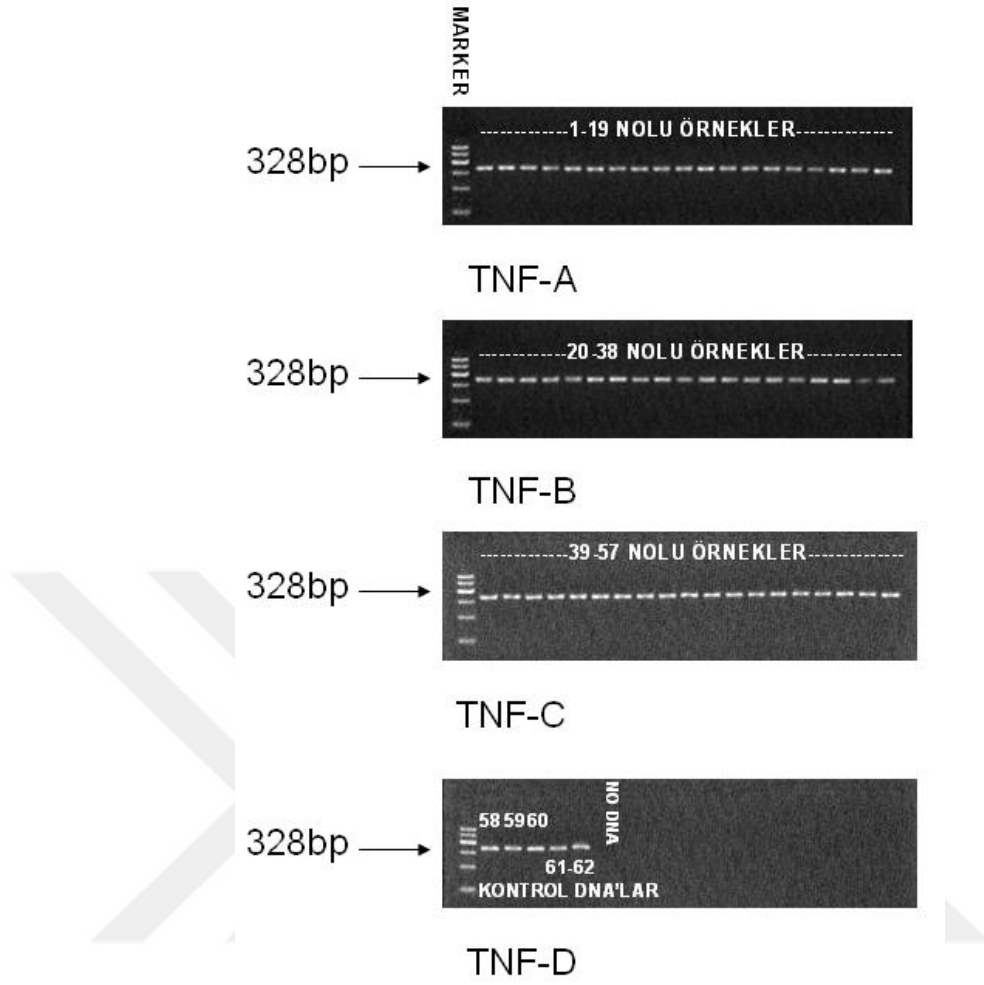
Tablo: İL-10 -1082 promor bölgesindeki polimorfizmin genotip ve alel sayıları

İL-10 -1082 T/C için hasta ve kontrol grubunda genotip ve alel frekansları; G/G ; hastalardan 3' ünde (% 7.5) saptandı ancak kontrol grubunda yoktu A/G ; hastalardan 14' ünde (% 35) ve kontrol grubunda 12' sinde (% 60) A/A ; hastalardan 23' ünde (% 57.5) ve kontrol grubunda 8' inde (% 40) idi. G alel frekansı hastalarda % 25 ve kontrol grubunda % 30 ve A alel frekansı hastalarda % 60 ve kontrol grubunda % 28 idi. (tablo).

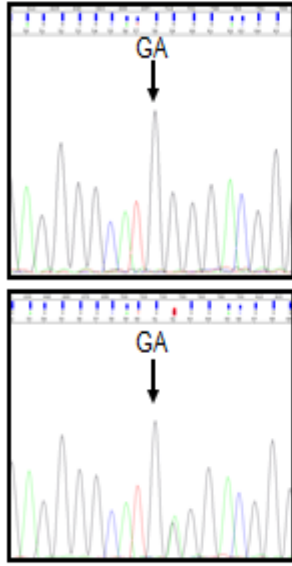
4.4. TNF- α Geni Promotor -328 G/A ve -238 G/A Tek Nükleotid Polimorfizmi Sonuçları

TNF- α geni promotor -308 G/A ve -238 G/A tek nükleotid polimorfizm varlığını araştırmak için otomatik DNA dizi analizi yöntemi kullanıldı. TNF- α geni -308 G/A ve -238 G/A promotor bölgesi SNP 328-bp ürünün dizi analizi ve jel elektroforezdeki görünümü Şekil- de gösterilmiştir.

Heterozigot olma durumu TNF- α -308 ve -238 için G/A ile tanımlanıp dizi analizinde çift pik olarak görülür iken homozigot olma durumu TNF- α -308 ve -238 için G/G ve A/A ile tanımlanır ve tek bir pik olarak görülür (şekil). SNP için alel ve genotip frekansları Tablo 1'de özetlenmiştir. Hasta ve kontrol gruplarının TNF- α -308 ve -238 promotor bölgesindeki genotip sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. ($p > 0,05$).



Şekil 36: TNF- α ' e ait hasta ve kontrol grubunun jel elektroforez görüntüleri. TNF- α 5' uç bölgesinin primerleri kullanılarak elde edilen 328 bp uzunluktaki PZR ürünlerinin agaroz jeldeki görünümü



TNF- α 308 G/A Promoter Polymorphism

Şekil 37: TNF- α 'nın -308G/A polimorfizminin genotiplemesi. İki farklı genotipinin bir revers primer kullanılarak elde edilen PCR-amplifiye ürününün dizi analizi yöntemi ile gösterilmesi.

TNF- α -308	HASTA % n=40	KONTROL % n=20	P
GENOTİP			
A/A	0	0	0,476
G/A	8 (20)	3 (15)	1,000
G/G	32 (80)	17 (85)	0,806
A/A+G/A	8	3	0,806
G/G+G/A	40	20	0,476
ALLEL			
G	72 (90)	37 (92.5)	0,655
A	8 (10)	3 (7.5)	0,655

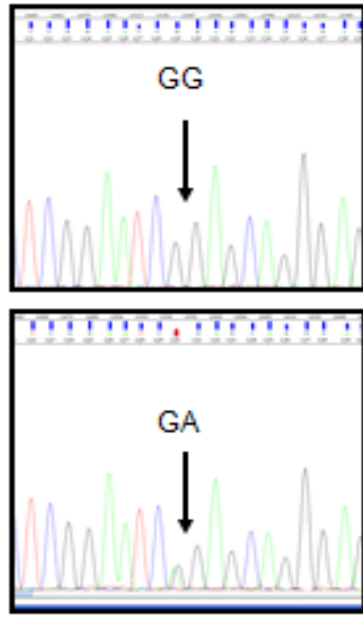
Tablo: TNF- α -308 promotor bölgesindeki polimorfizmin genotip ve alel sayıları

TNF- α -308 G/A için hasta ve kontrol grubunda genotip ve allel frekansları;
A/A genotipine hasta ve kontrol grubunda rastlanmadı.

G/G ; hastalardan 32' sinde (% 80) ve kontrol grubunda 17' sinde (% 85)

A/G ; hastalardan 8' inde (% 20) ve kontrol grubunda 3' ünde (% 15) idi.

G allel frekansı hastalarda % 90 ve kontrol grubunda % 92.5 ve A allel frekansı hastalarda % 10 ve kontrol grubunda % 7.5 idi. (tablo).



TNF- α 238 G/A Promoter Polymorphism

Şekil 38: TNF- α 'nın -238G/A polimorfizminin genotipleme. İki farklı genotipinin bir revers primer kullanılarak elde edilen PCR-amplifiye ürünün dizi analizi yöntemi ile gösterilmesi.

TNF- α -238	HASTA % n=40	KONTROL % n=20	P
GENOTİP			
A/A	0	0	0,476
G/A	3 (7.5)	1 (5)	0,714
G/G	37 (92.5)	19 (95)	0,509
A/A+G/A	3	1	0,509
G/G+G/A	40	20	0,476
ALLEL			
G	77 (96.25)	39 (97.5)	0,374
A	3 (3.75)	1 (2.5)	0,374

Tablo: TNF- α -238 promor bölgesindeki polimorfizmin genotip ve alel sayıları

TNF- α -238 G/A için hasta ve kontrol grubunda genotip ve allel frekansları;

A/A genotipine hasta ve kontrol grubunda rastlanmadı.

G/G ; hastalardan 37' sinde (% 92.5) ve kontrol grubunda 19' unda (% 95)

A/G ; hastalardan 3' ünde (% 7.5) ve kontrol grubunda 1' inde (% 5) idi.

G allel frekansı hastalarda % 96.25 ve kontrol grubunda % 97.5 ve A allel frekansı hastalarda % 3.75 ve kontrol grubunda % 2.5 idi. (tablo).

5. TARTIŞMA

Biz bu tez çalışmamızda bronşektazi ile yaş, eğitim durumu, gelir düzeyi, semptom ve bulguların sıklığı, sigara içme durumları, enfeksiyon ve inflamasyon belirteçleri (beyaz küre sayısı (Wbc), lökosit subgrupları, saatlik eritrosit sedimentasyon hızı, CRP), hücresel ve humoral immünite belirteçleri, proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokin belirteçleri arasındaki ilişkiyi ve aynı zamanda hasta grubumuzda bronşektazi hastalığına genetik yatkınlık oluşturabileceğini düşündüğümüz sitokin gen polimorfizmlerinin varlığını araştırdık.

Bronşektazi; kronik, tekrarlayan veya ağır enfeksiyon/inflamasyona bağlı olarak bronş duvarlarında elastik doku ve muskuler yapıların harabiyeti sonucunda oluşan hava yollarının anormal ve kalıcı genişlemesidir (2).

Güncel literatürlere bakıldığında bronşektazi patogenezinde konakçı savunmasındaki eksikliğin veya bozukluğun ve immün sistem fonksiyon bozukluklarının yer aldığı vurgulanmaktadır. Ayrıca bu literatürlerde konakçı savunmasındaki bozukluğun genetik bir yatkınlıktan kaynaklanabileceği ve bu nedenle de bu hastaların daha sık alt solunum yolları enfeksiyonu geçirdiği ve bu enfeksiyonların kronikleşerek bronşlarda epitel, musküler ve elastik tabakalarda kalıcı destrüksiyonlar oluşturduğu belirtilmektedir (1,51,57).

Akut ve kronik inflamasyonun kontrolü ile ilgili bilgiler ve bu konuda yapılan çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır. Özellikle kronik inflamasyon ile seyreden İnfeksiyon hastalıklarında olduğu gibi neden olan etkenin bilinmesi, çalışmaları kolaylaştırmakla birlikte, hücre içi mekanizmaları çözmek çaba ve uzun zaman gerektirmektedir. Gerek inflamatuvar gerekse otoimmün hastalıklara yatkınlıkla ilgili çok çeşitli genetik farklılıklar tarif edilmekle birlikte bu hastalıkların etyopatogeneplerinde multigenetik ve çevresel faktörlerin birlikte rol aldıkları kabul edilmektedir. Günümüzde çevresel koşulların moleküler düzeyde etkileri epigenetik düzenlenmelerle açıklanmaktadır (58).

Bizim çalışmamızdaki hasta grubunun yaş ortalaması $23,04 \pm 4,62$ (20-38) yıl ve kontrol grubunun yaş ortalaması $23,04 \pm 2,62$ (20-32) yıl idi. Yaş ortalaması bakımından hasta grubu ve kontrol grubu arasında istatistiksel

olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Çalışma grubumuz kurumsal yapının özelliğinden dolayı genç erkek hastalardan oluştuğu için erkek cinsiyet ve genç yaşın bronşektazi gelişme sıklığı üzerine etkisi konusunda yorum getirmek doğru olmayacaktı. Çakmak ve ark.'nın yaptığı çalışmada olguların %64'ünün erkek, %36'sının kadın olup ortalama başvuru yaşı 55 ± 16 (13–79 yaş) olarak bildirilmiş (53). 2010 yılında Türkiye'nin İzmir ilinde Arzu Babayiğit ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada; 2003-2008 yılları arasında İzmirde yaşayan bronşektazili 66 çocuk çalışmaya alınmış. Çocukların 44'ü (%66,7) erkek, 22'ü (33.3%) kadın olup ortalama yaş $9,20\pm4,38$ ve bronşektazinin en sık nedeni enfeksiyonlar, 2.en sık nedeni olarak astım saptanmış (23).

Olgularımızın özgeçmişleri detayları olarak incelendiğinde 40 kişiden 32'sinde (% 80) çocukluğunda sık akciğer enfeksiyonu geçirdiği ancak bunun yeterli tedavisinin olmadığı öğrenildi. Ancak bu hastaların sosyokültürel seviyesi ve gelir düzeyi ile bronşektazi görülme oranı arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yoktu ($p>0.005$). Özellikle çocukluk çağında geçirilen primer viral veya sekonder bakteriyel pnömoniler sonrasında bronşektazi gelişebilir (1).

Bizim olgularımızdaki semptomlara bakacak olursak, balgam çıkarma hepsinde (% 100), nefes darlığı 34'ünde (%85), göğüs ağrısı 11'inde (% 28,2), öksürük 37'inde (% 92.5), hemoptizi 4'ünde (%10) mevcut idi. Kontrol grubunda ise 14'ünde (% 70) hemoptizi, 2'inde (% 10) göğüs ağrısı, 3'ünde (% 15) nefes darlığı ve öksürük 1'inde (% 5) mevcut olup balgam çıkarma şikayeti hiçbirinde yoktu. Bizim olgularımızda görülen en sık üç semptom (balgam çıkarma, öksürük ve nefes darlığı) kontrol grubu ile kıyaslandığında hasta grubunda daha sık görülmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($p<0,001$). Bu semptomların sıklığı da diğer bronşektazi serilerindeki semptomların görülme oranı ile benzer idi (1). Hastaların fizik muayene bulgularına bakıldığında; wheezing 25'inde (% 62.5), ral 9'unda (% 22.5), ronküs 29'unda (%72.5), çomak parmak 16'sında (% 40) mevcut idi. Hastaların hiçbirinde ateş yoktu. Kontrol grubunda fizik muayene bulgusu yoktu. Bizim olgularımızda saptanan muayene bulguları

(wheezing, ronküs, çomak parmak ve ral) kontrol grubu ile kıyaslandığında hasta grubunda daha sık görülmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($p<0,001$ ve $p= 0,021$). Hasta ve kontrol grubunda ateş bulgusu saptanmadığından istatistiki olarak anlamsızdı. Hastalarımız bronşektazi yönünden alevlenmesi olmadığı değerlendirilen stabil dönemdeki kişilerden oluşmaktaydı. Alevlenme kriterlerini taşıyan hastalardaki mevcut akut inflamasyon çalışma sonucunu etkileyebileceğinden dolayı bu kişiler çalışma dışı bırakıldı. Aynı zamanda hemoptizi şikayeti kontrol grubunda hasta grubundan daha sık görülmekle birlikte istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek bulundu ($p<0,001$). Bunun nedeni hemoptizi şikayeti nedeni ile bize başvuran ancak yapılan tetkikler neticesinde herhangi bir hastalığı saptanmayan kişileri kontrol grubu olarak kabul etmemizden kaynaklanıyordu.

Sigara dumanına uzun süre maruziyet; akciğerlere inflamatuvar hücre göçüne yol açmaktadır. Bu hücrelerden açığa çıkan proteinazların miktarı inhibitörlerinin düzeyini aştığında, ortaya çıkan onarım anormal olmakta ve bu hatalı onarım sonucunda da hava yolu hasarı ile hava yolu duvarında anormal genişlemeler oluşmaktadır (59). Sigara içenlerde sigara dumanına sürekli maruz kalınması ile birlikte duyarlı kişilerde epitel hücrelerini birbirine bağlayan desmozomlar zarar görür. Hücre aralıkları genişler, sigara dumanı ve zararlı faktörler submukozaya kolayca ulaşır. Sigaranın aktifleştirdiği epitel hücrelerinden serbestleşen IL-2 lenfosit göçünden ve proliferasyonundan, makrofaj/monosit göçünden ve aktivitesinden sorumludur. Epitel hücresinin serbestleştirdiği IL-10 gibi doğal antiinflamatuvar sitokinler inflamasyonun kontrolünde etkilidir. Epitel kaynaklı değiştirici-dönüştürücü büyüme faktörü-1 (TGF-1) lenfosit göçüne, fibroblastlarda aktivite artışına, anjiogeneze ve epitel hücre uyarısına sebep olur. LTB₄ ve TNF- α özellikle nötrofil göçüne yol açar. Epitel ve makrofaj kökenli TNF- α , NF- κ B etkisi ile daha fazla IL-8 yapımına ve solunum yolunda daha fazla nötrofil birikimine sebep olur. Lenfosit kökenli IL-5 yanında epitel kökenli IL-8, GM-CSF ve sekretuar epitel kökenli IL-5 eozinofillerin göçüne yol açar. T lenfositlerin serbestleştirdiği IL-3 ve TGF-1 ise bronş duvarında mast hücre birikimine yol açar. TNF- α da mast hücre

birikiminde rol oynamaktadır. Sigara içen ve solunum yollarında inflamasyonun izlendiği olgularda mukozada toplam lökositler (CD45), total T lenfositleri (CD3) artmış ve nötrofiller birikmiştir. Bazal membran hizasında lenfositler (CD3, CD8), makrofajlar ve plazma hücreleri, submukozada CD8 lenfositleri ve makrofajların birikimi artmıştır (60). Bizim çalışmamızdaki hasta grubu ile kontrol grubu sigara içme alışkanlıkları ile bronşektazi görülme sıklığı yönünden kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlılık saptanmadı. Ayrıca hasta grubunda sigara içme alışkanlıkları ile inflamasyon belirteçleri olan laboratuvar bulguları arasında da bir ilişki bulunamadı ($p>0.005$).

Bronşektazideki inflamasyon varlığı yönünden CRP ölçümü, özgül olmayan, inflamasyonu gösteren bir test olmasına karşın, bazı hastalıkların tanısında, riskinin belirlenmesinde ve izlenmesinde çok önemlidir. Dolaşımdaki CRP'nin hemen tamamı hepatositlerden salgılanır. İnflamasyondan sonra kısa sürede yükselmeye başlayıp, 6 saat sonra CRP düzeyi >5 mg/L olur. CRP 48 saatte maksimuma ulaşır. Yarı ömrü 19 saat kadardır (61). Akut faz reaktanlarından biri olan CRP, biyolojik fonksiyonların anlamlı bir göstergesidir ve klinik bulgular belirsiz olduğu zaman, erken inflamasyonu ve doku hasarını göstermesine rağmen akut inflamasyonun olmadığı stabil dönem bronşektazi hastalarında da CRP düzeyi yüksek saptanabilmektedir. Örneğin KOAH alevlenmesi olmayan stabil durumda bile CRP düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (62). Bizim çalışmamızdaki hasta ve kontrol grubunun CRP düzeyi değerlendirildiğinde hasta grubunda CRP düzeyi yüksek ve ortalaması $5,77\pm6,41$ mg/L iken kontrol grubunda CRP düzeyi yüksekliği saptanmadı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptandı ($p<0.05$).

ESR düzeyine ve periferik kan beyaz küre sayısına ve % cinsinden lökosit subgruplarına bakıldığında hasta ve kontrol grubunda nötrofil, lenfosit, eozinofil oranı yüksekliği ve ESR düzeyi yüksekliği saptanmadı. ESR düzeyi normal aralıkta olup ortalaması $8,85\pm7,35$ mm/h idi. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Hastalar stabil dönemde olduğundan dolayı bu değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadığı düşünüldü. Eozinofiller ve bazofiller de lökositler ve

sekrete ettikleri kemotaktik faktörler ile kemotaksiste rol alır. Eozinofiller özellikle parazitik olaylarda rol alır. Tekrarlayan veya kronik infeksiyonlar sonrası gelişen bronşektazinin patogeneğinde eozinofilik inflamasyonun rolü bilinmemekle birlikte eozinofilik inflamasyonun belirgin rolü olmadığı düşünüldü. Bronşektazi astım veya ABPA ile birlikte olursa eozinofil sayısında artış beklenebilir (63).

Bazofil ve monosit yüzdesi ortalama değer olarak bakıldığında hasta grubunda daha yüksek oranda (bazofil % $0,51 \pm 0,29$, monosit % $6,87 \pm 1,82$) saptandı. Ancak hasta ve kontrol grubunda bazofil ve monosit yüksekliği olan kişiler mevcut değildi. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptandı ($p < 0.05$). Nötrofiller hücresel immünitenin komponenti olup yabancı cismi, mikroorganizmayı ve antijeni fagositoz yapmak suretiyle hücredeki enzimatik reaksiyon ile patojeni yokeder. Nötrofil fonksiyon bozukluğunda hücre fagositoz yapamaz. Lenfositler immün sistemin humoral komponentini oluştururlar. Bu hücrelerin en temel görevi mikroorganizmaları tanıyıp onlara karşı antikor oluşturmaktır. Özellikle B lenfositler. Monositler ise fagositoz yapma yeteneğine sahip olup lenfositler ile direkt veya indirekt yoldan immün sistemin regülasyonunda önemli rol oynar. Monositlerin dokuda bulunan şekline makrofaj denir. Bu da konakçı savunmasında önemlidir. (64,65)

Bizim çalışmamızda tam kan sayımları incelendiğinde; (monosit, bazofil oranı hariç) nötrofil, eozinofil ve lenfosit yüzde cinsinden oranları ile bronşektazi arasında anlamlı bir ilişki yoktu. Ancak benzer çalışmalara bakıldığında istatistiksel ve klinik olarak anlamlı olabilecek sonuçlar mevcuttu. Arzu Ertürk ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; etyolojisi bilinmeyen ve yüksek rezolüsyonlu bilgisayarlı tomografi ile nonkistik bronşektazili 15 olguda akut alevlenme olmayan dönemde monosit ve granülositlerin fagositoz fonksiyonları ve oksidatif patlama fonksiyonları araştırılmış ve IgG, IgA, IgM, IgE düzeyleri çalışılmış. Fagositoz için monositlerde %65-95, granülositlerde %95-99; oksidatif patlama için monositlerde %70-100, granülositlerde %95-100 aralığı normal olarak değerlendirilmiş. Olguların hepsinde IgG, IgM, IgA düzeyleri normal, 2 olguda IgE düzeyi yüksek izlenmiş. 11 olguda T hücre subgrupları çalışılmış ve 4 olguda normal değerlerde izlenmiş. Monosit

fagositozu 6, granülosit fagositozu 8; monosit oksidatif patlama 5 ve granülosit oksidatif patlama fonksiyonları 5 hastada düşük olarak saptanmış. 1 hastada 4 fonksiyonda, 2 hastada 3 fonksiyonda, 5 hastada 2 fonksiyonda birden bozukluk varmış. 12 hastanın (%80) en az bir fonksiyonu bozukmuş. En az iki fonksiyonu bozuk olan 8 olgu (%53,3) varmış. Sonuç olarak; sınırlı sayıdaki bronşektazili olguda fago-patlama panelde %80 oranında bozukluk saptanmış. Erişkin bronşektazilerin etiolojisinde bağışıklık sisteminin incelenmesinin önemli olacağı vurgulanmış (66).

Günümüzde immün sistem fonksiyonlarının incelendiği çalışmalar az sayıdadır. Özellikle de humoral immünite ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır ancak bronşektazili olgularda immunglobulin düzeyleri %10 oranında düşük bulunmuştur. IgG alt grup bozuklukları bronşektazi etyolojisinde yer almaktadır (67,68).

Humoral immünite belirteçleri olan ve B lenfosit fonksiyonlarını gösteren immünglobülin seviyelerine bakıldığında; hasta grubunda IgA düzeyi yüksekliği saptanmadı. IgA düzeyi düşük olan hasta sayısı 9 (%22,5) iken kontrol grubunda IgA düzeyi normal sınırlarda idi. Bronşektazi gelişimi ile IgA eksikliği arasında anlamlı bir ilişki saptandı. Hasta grubunda IgG düzeyi düşük olan hasta sayısı 6 (% 15) ve IgG düzeyi yüksek olan hasta sayısı 5 (%12,5), kontrol grubunda ise IgG düzeyi normal sınırlarda saptandı. Hasta grubunda IgE düzeyi düşük hasta saptanmamış olup IgE düzeyi yüksek olan hasta sayısı 3 (%7) iken kontrol grubunda normal sınırlarda saptandı. Hasta ve kontrol grubunda IgM düzeyi düşük ve yüksek kişi saptanmadı. Gruplar arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı.

Bizim olgularımızda IgA düzeyi düşüklüğü hariç immunglobulin düzeyleri ve kompleman seviyeleri ile bronşektazi arasında ilişki saptanmadı. Ancak benzer çalışmaları içeren güncel literatürler incelendiğinde farklılıklar izlendi. King ve arkadaşlarının yüz üç olguluk araştırmasında ise yetişkin bronşektazili olgularda bronşektazi patogenezinde konakçı savunmasındaki bozukluk ve immün sistem defektleri vurgulanmıştır. Bronşektazide immün sistem fonksiyonlarının incelendiği az sayıda çalışma mevcuttur. Bu 103 olguda tam kan incelemeleri, immünglobülinler, IgG izotipleri, kompleman düzeyleri,

lenfosit alt grupları ve nötrofil fonksiyonları incelenmiş. 13 olguda IgG3 seviyesi, 7 olguda Th hücreleri, 6 olguda B lenfosit hücreleri, 33 olguda nötrofil oksidatif fonksiyonları düşük olarak saptanmıştır. Erişkinlerde bronşektazi etyolojisinde nötrofil fonksiyonlarının bozukluğunun önemi ilk kez bu çalışmada vurgulanmıştır (66).

Yine King ve ark.nın yaptığı benzer bir çalışmada yetişkinlerde görülen bronşektazide immün fonksiyonlar değerlendirilmiş. Güncel literatürlerde bronşektazinin patogenezinde konak savunmasının ve immün defektin rolü vurgulanmış ve yetişkin bronşektazisinde immün fonksiyonu araştıran az sayıda çalışma olduğu belirtilmiş. 103 kişiden oluşan erişkin bronşektazi hastalarında immün fonksiyonun kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesi için tam kan incelemeleri, immünglobulin ve IgG izotipleri, kompleman düzeyleri, lenfosit alt grupları ve nötrofil fonksiyonu kapsayan inceleme yapılmış. Bu çalışmada kompleman düzeyleri ve tam kan incelemeleri normal ve kontroller ile karşılaştırıldığında vakaların önemli bir kısmında IgG3 düzeylerinin (13 hasta) B hücre lenfositlerinin (6 hasta) ve T helper hücrelerinin (7 hasta) düşük olduğu tespit edilmiş (91).

Hasta ve kontrol grubunda C3b düzeyi düşüklüğü ve yüksekliği saptanmadı. Hasta grubunda C4 düzeyi düşük olan hasta sayısı 16 (% 40) ve C4 düzeyi yüksek olan hasta sayısı 2 (%5) iken kontrol grubunda ise C4 düzeyi düşüklüğü ve yüksekliği saptanmadı. C4 düzeyi ve C3b düzeyi ile bronşektazi arasında ilişki bulunamadı ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. Kompleman eksikliği en nadir görülen immün yetmezlik olup, tüm immün yetmezliklerin %1-3 ünü oluşturmaktadır. C1-C4 eksikliğinde otoimmün hastalıklar ve piyogenik enfeksiyonlara eğilim artmıştır. Distal kompleman komponent eksikliklerinde (C5-C9) ise Neisseria enfeksiyonları sıklıkla görülmektedir. C3 eksikliğinde enfeksiyonlar, tekrarlayan pnömoni, menenjit ve peritonit seklindedir. Hastalığın kliniği antikor yapım defektini taklit edebilir (64).

Sitokinlerin immün yanıtın regülasyonunda oynadıkları önemli rollerin bir göstergesi Th1/Th2 Polarizasyonudur. Th lenfositler salgıladıkları sitokinlere göre Th1 ve Th2 olarak 2 alt gruba ayrılır. Th1 lenfositler IL-2, IFN- γ , TNF- β

(lenfokin) salgılamak, IL-4 ve IL-5 salgılamaz. Th2 lenfositleri ise IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 salgılamak, IFN- γ ve TNF- β salgılamaz. Th1 ve Th2 hücreler birbirlerinin fonksiyonlarını karşılıklı olarak regüle ederler. Th2 hücrelerde yapılan IL-4 ve IL-10, Th1 hücrelerini inhibe ederken, Th1 hücrelerde salgılanan IFN- γ , Th2 hücrelerini inhibe eder. İnflamatuar ve immün yanıtlar Th1 hücrelerince oluşturulurken, humoral immün yanıtlar ve allerjik yanıt Th2 hücrelerince oluşturulur (69). Th1 sitokin ailesi içinde bulunan IFN- γ , TNF- β ve IL-2 IgG2a, komplemanı fikse edici antikorların üretimini artırır, makrofaj aktivasyonuna yol açar ve antikor bağımlı hücrel immünite ile gecikmiş hipersensitiviteden sorumludur. Th2 ailesi içindeki sitokinler ise humoral immün cevaplardan, mukozal immüniteden sorumlu olup, mast hücrelerinin ve eozinofillerin gelişimini uyarır. Ayrıca IgA sentezine yol açar. Sonuç olarak Th1 hücreleri hücrel aracılı immün cevaplardan sorumlu iken Th2 hücreleri antikor cevabı ve allerjik yanıtlardan sorumludur (70).

IL-1, TNF, PDGF, IFN ve sikloheksimid IL-6 gen ekspresyonunu artırıcı etki oluşturur. Glukokortikoidler, IL-6 gen belirmesini negatif olarak etkilerler (60). İnterlökin 6, B lenfositlerin antikor yapabilmesi için gerekli temel faktörlerden biridir ve mitojen ile uyarılmış lenfositlerin IgG, IgM, IgA yapan plazma hücrelerine dönüşümünü artırır. IL-6 reseptörleri istirahat halindeki B lenfositlerinde bulunmazken istirahat halindeki T lenfositlerinde bulunmaktadır. Bu özellik IL-6'nın B lenfositlerin son dönemine etkili olduğunu gösterir. IL-2 reseptör ekspresyonunu artırarak timosit ve dalak T lenfositlerden sitotoksik T lenfosit oluşmasını indükler. Hücre kültürlerinde IL-3 ile beraber sinerjistik etki gösterir ve ayrıca makrofajlarda C3b, Fc gamma reseptör belirginleşmesi ve fagositozu artırıcı etki gösterir (60). Bizim çalışmamızda proinflamatuar sitokinlerden IL-6'nın serum ve BAL sıvısındaki seviyelerine bakıldığında; hasta grubunda serum IL-6 düzeyi yüksekliği olan kişi sayısı 16 (% 40) ve hasta grubunda BAL sıvısı IL-6 düzeyi yüksekliği olan kişi sayısı 6 (% 15) iken kontrol grubunda ise serum ve BAL sıvısında IL-6 düzeyi düşüklüğü ve yüksekliği saptanmadı.

Bizim çalışmamızda sitokin seviyelerine bakılırken ELISA yöntemi kullanılmış olup, hasta grubunda serum ve BAL sıvısında IL-6 düzeyinin daha

yüksek bulunmasına karşın kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadiğı görülmüştür. Bunun sebebinin hasta grubunda İL-6 düzeyleri açısından en küçük ve en yüksek değerlerinin arasındaki farkın büyük olmasından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Stabil dönem bronşektazi olgularında serum İL-6, İL-8, TNF-a düzeylerinin yüksek olmasının fizyolojik önemi bilinmemekle birlikte stabil dönemde bile inflamasyonun devam ettiğini ve sistemik hücrel immün cevabın aktif olduğunu desteklemektedir. Böylece bronşektazide antiinflamatuvar tedavinin önemini ve gerekliliğini vurgulamıştır. Bilindiğı gibi bronşektazi hastalarında çeşitli sitokinlerin (TNF α , IL-1 gibi) plazma ya da serumda artmış olması lokal inflamatuvar yanıtın bu mediyatörler aracılığıyla sistemik dolaşımla bağlantılı olduğunu kuvvetle desteklemektedir. Bu nedenle inflamatuvar sitokinlerin serum düzeylerinin hastalığın ağırlığını ve progresyonu saptamaya yardımcı olabileceğı düşünülebilir. Bizim çalışmamızda hasta grubunda serum İL-6, İL-8, TNF-a düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek saptandı ancak sadece serum İL-8 düzeyi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlılık gösteriyordu ($p < 0,005$). İL-6 ve TNF-a düzeyleri ve bronşektazi arasında istatistiksel yönden anlamlı ilişki bulamadık.

Nötrofiller için kemoatraktan olan IL-8, bronşektazili ve KOAH' lı hastaların indükte balgam ve BAL örneklerinde yüksek konsantrasyonlarda saptanabilir (81). Yine bizim çalışmamızda proinflamatuvar sitokinlerden İL-8' in serum ve BAL sıvısındaki seviyelerine bakıldığında; hasta grubunda serum İL-8 düzeyi yüksekliğı olan kişi sayısı 31 (% 77,5) ve hasta grubunda BAL Sıvısı İL-8 düzeyi yüksekliğı olan kişi sayısı 29 (% 72,5) olup hasta grubunun serum ve BAL Sıvısı İL-8 düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek saptandı. Kontrol grubunda ise İL-8 düzeyi düşüklüğü ve yüksekliğı saptanmadı ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulundu.

İL-10 ise anti-inflamatuvar bir sitokin olup TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin etkisini inhibe eder. İL-10 seviyesinin düşük olduğu durumlarda baskılayıcı etkisi ortadan kalkacağından TNF- α seviyesi artmış olarak beklenir. İL-10, T lenfosit, makrofaj sitokinlerinin sentezini önler, IFN- α , lenfotoksin ve

INF salınımını azaltarak antiviral aktivite de gösterir. İL-10 ve diğer Th2 sitokinleri kronik GVH reaksiyonunda artarlar. IL-10 hücrel immünitenin inhibisyonunu gerektiren durumlarda tedavi amaçlı kullanılabilir. İL-10 konsantrasyonları KOAH ve bronşetazili hastaların uyarılmış balgamlarında azalmıştır ve bu durum akciğer inflamasyonunu arttırmak için bir mekanizma olabilir (89). İL-10 günümüzde steroid direnci olan hastaların dahil olduğu diğer kronik inflamatuvar hastalıklar (inflamatuvar barsak hastalığı, romatoid artrit ve psöriazis) için klinik çalışmalarda yer almaktadır. İL-10' un özellikle İL-10 reseptörlerinin veya sinyal iletim yollarının seçici bir aktivatörü geliştirilirse terapötik potansiyeli olabilir. İL-10' un serum ve BAL sıvısındaki seviyelerine bakıldığında; hasta grubunda serum İL-10 düzeyi düşüklüğü saptandı ve serum İL-10 düzeyi düşük olan kişi sayısı 25 (% 62,5) ve hasta grubunda BAL Sıvısı İL-10 düzeyi düşük olan kişi sayısı 24 (% 60) olup hasta grubunun serum ve BAL Sıvısı İL-10 düzeyleri kontrol grubuna göre düşük saptandı. Kontrol grubunda ise İL-10 düzeyi düşüklüğü ve yüksekliği saptanmadı ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulundu.

TNF- α ve IL-8 kuvvetli kemoatraktif medyatör olup nötrofillerin kemotaksisi ve aktivasyonuna neden olur. TNF- α , immünoinflamatuvar reaksiyonlarda düşük konsantrasyonlarda (10^{-9} M) lokal etki gösteren güçlü parakrin ve otokrin düzenleyicidirler. Aynı zamanda birçok hücre tipinde büyüme ve farklılaşmayı düzenler. Özellikle interferon-gama ile kombinasyonu sitotoksiktir. Çalışmalar, TNF- α ' nın akut inflamasyonda ve antitümöral immünitede en önemli sitokin olduğunu göstermektedir. Nötrofil ve endotel hücrelerini uyarak adezyon ve kemotaksisi yönetir. (90).

Bizim çalışmamızda proinflamatuvar sitokinlerden TNF- α ' nın serum ve BAL sıvısındaki seviyelerine bakıldığında; hasta grubunda serum TNF- α düzeyi yüksekliği olan kişi sayısı 8 (% 20) ve hasta grubunda BAL sıvısı TNF- α düzeyi yüksekliği olan kişi sayısı 18 (% 45) iken kontrol grubunda ise serum ve BAL sıvısında TNF- α düzeyi düşüklüğü ve yüksekliği saptanmadı.

Bronşektazi; hastanın özellikleri, mikrobiyal ajanların özellikleri, genetik ve çevresel faktörlerin kompleks etkileriyle oluşan multifaktoriyel bir hastalıktır.

Mikroorganizmalar tarafından uyarılan hastanın immün yanıtı ile akciğer hava yolu dokuları bir yandan korunurken, bir yandan da yıkıma uğrayabilmektedir. Kronik akciğer inflamatuvar hastalıklarında, doku yıkımına neden olan iltihabi ve immünolojik mekanizmalar genetik kontrol altında olabileceği düşünülmektedir. Bakterinin hava yolu kolonizasyonunun varlığında başlayan bronşektazide, genetik faktörler tek başına hastalık oluşumu için yeterli değildir. Ancak, konağın immünoinflamatuvar yanıtını etkileyebilecek genetik varyasyonlar, obstrüktif bronşiyal hastalığa yatkınlıkta ve hastalığın seyrinde rol oynayabilmektedir. Genetik faktörlerin belirlenmesinde önemli nokta, hastalığın klinik tablosunda farklılık yaratabilecek ölçüde anlamlı rol oynayan genetik etkenlerin tanımlanabilmesidir.

Bu nedenle kronik inflamatuvar hastalığın patogenezinde rol oynayan hedef genlerin incelenmesi önemlidir. İnflamatuvar mekanizmalarda aksamaya yol açabilecek genetik varyasyonlar, immün yanıtta izlenen bireysel farklılıkları, klinik olarak inflamasyon şiddetindeki bireysel farklılıkları ve tedaviye verilen cevabın neden farklılık gösterdiğini açıklayabilir. Ancak bu genetik varyasyonlar, genin kodladığı protein fonksiyonunu büyük ölçüde değiştiren ya da bozan bir mutasyon değil, protein üretiminin miktarı ve düzenlenmesinde önemli değişikliklere yol açan genetik varyasyonlar, yani gen polimorfizmleridir. Sonuç olarak polimorfizm çalışmalarının amacı hastalığa yatkınlık, hastalık şiddeti ve klinik tabloyu etkileyen potansiyel genetik faktörlerin tanımlanmasıdır (92,93).

Bizim çalışmamızda hasta ve kontrol gruplarının İL-6 -174 promotor bölgesindeki genotip G/C sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı. ($p < 0,05$). Literatürde bronşektazide İL-6 ekspresyonu ve ilgili gen polimorfizmlerinin birbirleri ile karşılaştırmalı olarak incelendiği bir araştırmaya rastlanmamıştır. Ancak kronik inflamasyonla seyreden hastalıklar ve İL-6 ekspresyonunun ayrı olarak değerlendirildiği çalışmalar mevcuttur. Literatürde Fishman ve ark.nın yaptığı bir çalışmada sistemik başlangıçlı juvenil kronik artrit ile İL-6 -174 G/C polimorfizmi arasındaki ilişki incelenmiş. Hasta grubunda CC genotipinin frekansı istatistiksel olarak anlamlı düşük saptanmış (101).

Tek nükleotid polimorfizmi (TNP) insan DNA'sında en sık görülen sekans farklılığıdır.

Bizim çalışmamızda da benzer şekilde hasta grubunda kontrol grubuna göre TNF- α -308 G/A ve -238 G/A polimorfizminde istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı. TNF- α geni 6. kromozom (6p21.1-21.3) üzerinde ve Major Histokompatibilite Kompleks (MHC) klas III bölgesinde bulunur. Bu bölgede 5 mikrosatelit ve çoklu promotor polimorfik alanlar mevcuttur. İnsan TNF- α -308 G/A polimorfizminde, promoter bölgesinde transkripsiyonun başladığı bölgeden 308 nükleotid önde olan guanin (G) nükleotidi, adenin (A) nükleotidi ile yer değiştirmiştir. Nadir görülen A alleli genin transkripsiyonunu ve TNF- α üretimini arttırmaktadır (94). A alleli taşıyıcılarının birçok kronik metabolik, dejeneratif, inflamatuvar ve enfeksiyöz hastalığa yatkın olabileceği düşünülmektedir (95). Epiteloid hücreler (HeLa), hepatositler (HepG2) ve B hücreleri (Raji-B) gibi birçok farklı hücre tipi, değişik uyaranlarla (TNF, LPS, retinoik asit gibi) muamele edilmiş, TNF- α -308 G/A polimorfizminin TNF- α 'nın transkripsiyonel aktivitesi üzerindeki etkisi incelenmiştir. Çalışmanın sonuçları hücre tipinin ve değişik uyaranların TNF- α ekspresyonunda farklılığa neden olabileceğini, buna ek olarak TNF- α -308 G/A polimorfizminin yalnızca pre-monositik hücreler ve T hücrelerinden LPS'le stimülasyon sonrası TNF- α ekspresyonunu artırdığını göstermiştir. Bu nedenle araştırmacılar, monosit ve makrofajlardan yüksek düzeyde TNF- α üretiminin söz konusu olduğu serebral malaria, ve diyabet gibi hastalıklarda sözü edilen polimorfizmin hastalığın başlaması, gelişmesi, şiddeti ve klinik tablosuyla ilişkili olabileceğini öne sürmüşlerdir (96).

Genetik olarak TNF- α üretiminin fazla olması, kronik inflamatuvar sürecin bulunduğu bir hastalık olan bronşektazinin gelişimi ve ilerlemesinde de rol oynayabilir. KOAH ve dissemine bronşektazili hastalarda yapılan bir polimorfizm çalışmasında TNF- α -308 A alleli kronik inflamasyonlu akciğer hastalığı ile ilişkili bulunmamış (97).

Kafkasyalılarda yapılan çalışmalar (97,98) aynı sonucu vermiş ve Patuzzo ve arkadaşları, KOAH'da TNF gen kompleksinin major rol

oynamadığını bildirmişlerdir (97). KOAH'lı 66 ve 23 dissemine bronşektazili hasta grubunu, 98 sağlıklı kontrol ve 45 nonobstrüktif akciğer hastalıklı gruplarla karşılaştırmışlar ve gen kompleksinde anlamlı fark saptamamışlardır. Fakat TNF gen kompleksi mutasyonunun diğer gen mutasyonları ile ilişkili olabileceğini bunun da KOAH için risk faktörü olabileceğini belirtmişlerdir. Ferrarotti de yaptığı çalışmada, TNF genlerinde KOAH'lı ve kontrol grubunda bir fark saptamamış; fakat çalışmaya fenotip olarak çok dar spektumlu hasta popülasyonu alındığını göz önünde bulundurulması gerektiğini belirtmiştir (98).

Bizim çalışmamızda hasta ve kontrol gruplarının İL-10 -592 promotor bölgesindeki genotip A/C sayıları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p < 0,05$) ve aynı şekilde İL-10 -819 promor bölgesindeki genotip T/C sayıları arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p < 0,05$). Ancak İL-10 -1082' nun promotor bölgesindeki genotip sayıları arasında anlamlı bir fark saptanmadı. ($p > 0,05$).

İL-10 seviyesi genin promotor bölgesindeki polimorfizmlerden etkilenmektedir. Transkripsiyon başlama bölgesinden 1082, 819 ve 592 nükleotid gerisindeki noktalarda polimorfizm görülmektedir (99). IL-1082 A alleli, IL-10 seviyesinde azalmaya ve inflamasyonun daha ağır seyretmesine yol açmaktadır. IL-10 -1082 G artmış IL-10 yapımına, IL-10 -1082 A alleli ise düşük IL-10 yapımına yol açmaktadır (99). PPP ve SAC ile uyarımdan sonra ölçülen IL-10 seviyesi, IL-1082 A alleli olan kişilerde taşıyıcı olmayanlara göre istatistiksel olarak daha düşük bulunmuştur. IL-10 anti-inflamatuar bir sitokin olduğu için, bu sitokini az eksprese eden bireylerin Alzheimer hastalığına daha yatkın olduğu düşünülmektedir. Çinli popülasyonda IL-10 -592 C ve -819 C allelinin Alzheimer hastalığı için risk olduğu gösterilmiştir (100). Bu çalışmada IL-10 -1082 polimorfizminin IL-10 seviyesini degistirmedigi, IL-10 -819 T allelinin ise yüksek IL-10 seviyesine yol açtığı gösterilmiştir. Turner (99) çalışmasına göre GCC haplotipi yüksek, ACC haplotipi orta ve ATA haplotipi düşük IL-10 seviyesi ile ilişkili bulunmuştur. IL-10 promotor polimorfizmleri ile organ transplantasyon reddi, malign melanom, Sjögren, kemik iligi nakli, graft versus host reaksiyonu arasında ilişkisi gösterilmiştir.

SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmalar sınırlı olmakla birlikte, gelişmiş ülkelerde bronşektazi prevalansı artış eğilimini gösteren bir kanıt yoktur. Önceki çalışmalarda, akciğer enfeksiyonları tedavisinde geniş spektrumlu antibiyotik kullanılmasının, tüberküloz enfeksiyonu sıklığında azalma olması ve çocukluk çağında aşılanmanın yaygın kullanımı nedeniyle Batı ülkelerinde bronşektazi prevalansının azaldığı ileri sürülmüştür.

60 bireyin DNA dizi özelliklerine ait varyasyon verilerinin elde edilmesi, sonraki çalışmalara yön vermek amacıyla önemlidir. Proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokin gen polimorfizminin bronşektazi patogeneğinde oynadığı rolün daha net anlaşılabilmesi ve hastalığının yaygınlığı, prognozu ve klinik şiddeti arasındaki yönünde yapılacak ileri araştırmalar için bir fikir olusturacaktır. Aynı zamanda olgu sayıları arttırılarak yeni çalışmalar yapılmasını öneriyoruz.

5. KAYNAKLAR

- 1.** Luce JM. Bronchiectasis. In: Murray JF, Nadel JA, eds. Textbook of Respiratory Medicine. 2nd ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders and Co; 1994:1398-1417
- 2.** Fishman AP. Bronchiectasis. Fishman AP, Elias JA, Grippi MA, Kaiser LR, Senior RM, editors. Fishman's pulmonary diseases and disorders. 4th ed. New York: McGraw-Hill, 2008: 2183-92.
- 3.** <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1569904808000578>
- 4-** Garcia, M.A.M., Bronchiectasis: Still an Orphan Disease, ARCH Bronconeumol, 41:407-409,2005
- 5-** Roguin A. Rene Theophile Hyacinthe Laënnec (1781–1826): the man behind the stethoscope. Clin Med Res 2006; 4:230-35.
- 6-** Barker AF. Bronchiectasis. N Eng J Med 2002;346(18):1383-1393.
- 7-** Bilton D. Update on non-cystic fibrosis bronchiectasis. Curr Opin Pulm Med 2008;14:595-99.
- 8-** Sicard JA, Forestier J. L'exploration radiologique des cavités broncho-pulmonaires par les injections intra-trachéales d'huile iodée. J méd Franç 1924;13:3-9 (cited in)
- 9-** Reid L. Reduction in bronchial subdivision in bronchiectasis. Thorax 1950;5(3):233-47.
- 10-** Naidich DP, McCauley DI, Khouri NF, Stitik FP, Siegelman SS. Computed tomography of bronchiectasis. J Comput. Assist. Tomogr. 1982;6:437-444

- 11-** Grenier P, Maurice F, Musset D, Menu Y, H. N. Bronchiectasis: assessment by thin-section CT. *Radiology* 1986;161(95-99).
- 12-** Glanze W. Mosby's Dictionary, medical nursing & allied health. 3rd ed. St Louis: Mosby, 1990.
- 13-** Weycker D, Edelsberg J, Oster G, Tino G. Prevalence and economic burden of bronchiectasis. *Clin Pulm Med* 2005;12: 205–209.
- 14-** Scarlett EP. Bronchiectasis (A review). *Can Med Assoc J* 1946; 54:275–283.
- 15-** O'Donnell AE. Bronchiectasis. *Chest* 2008;134:815–823
- 16-** International Journal of COPD, The pathophysiology of bronchiectasis)
- 17-** Seitz AE, Olivier KN, Steiner CA, Montes de Oca R, Holland SM, Prevots R. Trends and burden of bronchiectasis-associated hospitalizations in the United States, 1993-2006. *Chest*. 2010;138(4):944-949.
- 18-** Roberts HJ, Hubbard R. Trends in bronchiectasis mortality in England and Wales. *Respir Med*. 2010;104(7):981-985.
- 19-** Bronchiectasis Research Registry. Sponsored by the Gillings School of Public Health, University of North Carolina at Chapel Hill, and the COPDFoundation.<http://www.csc.unc.edu/bron/whatistheregistrypub.php> . Accessed June 12, 2011.
- 20-** Özdemir L, Tabakoğlu E, Hatipoğlu O N, Altıay G, Özlen B, Çiftçi A, Çağlar T. Bronşektazi Olgularında Sosyoekonomik Özellikler ve Predispozan Faktörler. *Trakya Univ Tıp Fak Derg* 2007; 24: 98–100.
- 21-** P King, S Holdsworth, N Freezer and P Holmes. Bronchiectasis. *Internal Medicine Journal* 2006;36:729-737
- 22-** The role of TAP1 and TAP2 gene polymorphism in idiopathic bronchiectasis in children. *Pediatr Pulmonol*. 2007 Mar ;42(3):237-41
- 23-** Ece T, Arseven O, Akciğer Hastalıkları, İst. Tıp. Fak. Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitapları, Nobel Tıp Kitabevi, 2002: 159-167
- 24-** Numanoğlu N, Klinik Solunum Sistemi ve Hastalıkları, Ankara Üniv. Tıp. Fak. ANTIP A.Ş Yayınları, 2001: 421-431

- 25-** B. Karadağ F. Karakoç R. Ersu A. Kutb S. Bakaca E. Daglia Non-Cystic-Fibrosis Bronchiectasis in Children: A Persisting Problem in Developing Countries *Respiration* 2005;72:233–238
- 26-** B Kiper N, Göçmen A. Bronşektazili Hastanın İzlemi. *Katkı Pediatri Dergisi* 1999;20:130-4.
- 27-** Davis PB, Hubbard VS, McCoy K, Taussig LM. Familial bronchiectasis. *J Pediatr* 1983;102(2):177-185.
- 28-** Croxatto OC, Lanari A. Pathogenesis of bronchiectasis: experimental study and anatomic findings. *J Thorac Surg* 1954;27:514.
- 29-** Seaton A., Seaton D., Leitch A.G. editors. Bronchiectasis In: Crafton and Douglas's Respiratory Diseases. 4 th edition. London: Blackwell Scientific Publications, 1989: 601-629
- 30-** 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: Mosby Inc., 1999;784-92.
- 31-** Callahan CW, Redding GJ. Bronchiectasis in children: orphan disease or persistent problem? *Pediatr Pulmonol* 2002;33:492-6.
- 32-** Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Mitchell RN. *Robbins Basic Pathology*. 8th ed. Philadelphia: Saunders; 2007.
- 33-** Janeway CA, Travers P, Walport M, Shlomchik M. *Immunobiology: the immune system in health and disease*. 6th ed. New York: Churchill Livingstone; 2005.
- 34-** Barton GM. A calculated response: control of inflammation by the innate immune system. *J Clin Invest*. 2008; 118: 413-20.
- 35-** Park EJ, Barbul A Understanding the role of immune regulation in wound healing. *American J Surgery* 2004;187:11S-6S.
- 36-** Bienvenu J. Exploration of cytokines in biological fluids. *CR Seances Soc Biol Fil* 1995;189:545-55.
- 37-** Kuralay ve ark. İnflamatuar medyatörlere toplu bir bakış. *Genel Tıp Derg* 2006;16(3)

- 38-** Riordan TO, Wanner A. Bronchiectasis. In: Baum GL, Crapo JD, Celli BR, Karilnsky JB (Eds.) Textbook of Pulmonary Diseases. 807-822, Lippincott-Raven Publishers, 1998
- 39-** Angrill J, Augusti C, de Celis R, et al. Bacterial colonization in patients with bronchiectasis: microbiological pattern and risk factors. *Thorax* 2002;57: 15-9
- 40-** Ten Hacken NH, Wijkstra PJ, Kerstjens HA. Treatment of bronchiectasis in adults. *BMJ* 2007;335:1089-93.
- 41-** Wilson R. Bronchiectasis. In: Niederman MS, Sarosi GA, Glassroth J, eds. *Respiratory Infections*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2001;347-59
- 42-** Grimwood K, Semple RA, Rabin HR, et al. Elevated exoenzyme expression by *Pseudomonas aeruginosa* is correlated with exacerbations of lung disease in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 1993;15:135-9.
- 43.** Olivieri D, Ciaccia A, Marangio E, et al. Role of bromhexine in exacerbations of bronchiectasis. Double-blind randomized multicenter study versus placebo. *Respiration* 1991;58:117-21.
- 44.** Wills PJ, Wodehouse T, Corkery K, et al. Short-term recombinant human DNase in bronchiectasis. Effect on clinical state and in vitro sputum transportability. *Am J. Respir Crit Care Med* 1996;154:413-7.
- 45.** O'Donnell AE, Barker AF, Ilowite JS, Fick RB. Treatment of idiopathic bronchiectasis with aerosolized recombinant human DNase I. rhDNase Study Group. *Chest* 1998;113: 1329-34
- 46.** Kapur N, Chang AB. Oral non steroid anti-inflammatories for children and adults with bronchiectasis. *Cochrane Database Syst Rev* 2007;17.
- 47.** Langenderfer B. Alternatives to percussion and postural drainage. A review of mucus clearance therapies: Percussion and postural drainage, autogenic drainage, positive expiratory pressure, flutter valve, intrapulmonary percussive ventilation, and high-frequency chest compression with the Thairapy Vest. *J Cardiopulm Rehabil* 1998;18:283-9.
- 48.** Newall C, Stockley RA, Hill SL. Exercise training and inspiratory muscle training in patients with bronchiectasis. *Thorax* 2005;60:943-8.

49. Kutlay H, Cangir AK, Enön S, et al. Surgical treatment in bronchiectasis: Analysis of 166 patients. *Eur J Cardiothorac Surg* 2002;21:634-7.
50. Mazières J, Murriss M, Didier A, et al. Limited operation for severe multisegmental bilateral bronchiectasis. *Ann Thorac Surg* 2003;75:382-7.
51. Ertürk A, Canbakan S, Gülhan M, Ünsal E, Şengül A, Pekel A, Çapan N, Bronşektazili 15 olguda monosit ve granülosit fagositoz ve oksidatif patlama fonksiyonlarının değerlendirilmesi. *Solunum* 2007; 9: 2: 93-8
52. Çakmak F, Işık S, Öncül S. 1989 yılında Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Merkezinde bronkografi ile tanılar doğrulanan bronşektazi hastaların retrospektif incelenmesi. *Solunum* 1991; 2: 29–42.
53. Babayigit A, Olmez D, Uzuner N, Cakmakci H, Tuncel T and Karaman O. A neglected problem of developing countries: Noncystic fibrosis bronchiectasis. *Ann Thorac Med*. 2009 Jan-Mar; 4(1): 21–24.
54. Doğru D, Nik-Ain A, Kiper N, Göçmen A, Özçelik U, Yalçın E, Aslan AT . Bronchiectasis: the consequence of late diagnosis in chronic respiratory symptoms. *J Trop Pediatr*. 2005 Dec ;51(6):362-5.
55. By Guang-Shing Cheng, MD. Non-Cystic Fibrosis Bronchiectasis. *Chest*;2011:
56. Nelson, D.L., Cox M., Lehninger Principles of Biochemistry, Third Edition, Worth Publishers, 2000.
57. Morrissey D. Pathogenesis of Bronchiectasis. *Clin Chest Med*. 2007;28:289-296
58. Uyar F. Aytül, Doğal İmmün Sistem: Erken İnflamatuvar Yanıtın Kontrolü,
59. Eris Gülbay B, Acıcan T. Güncel Bilgiler Işığında Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı, Saryal SB, Acıcan T (Ed), Ankara. Bilimsel Tıp 2003; 21–33.
60. Batur M, Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığının Atak döneminde İnterlökinler, Tümör Nekroz Faktör- α ve Oksidan/antioksidan dengesinin önemi. Uzmanlık Tezi. Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Anabilim Dalı. 2008

61. Vigushin DM, Pepys MB, Hawkins PN. Metabolic and scintigraphic studies of radioiodinated human C-reactive protein, in health and disease. *J. Clin. Invest* 1993; 91: 1351–1357
62. Torres JP, Lanus CE, Aguilar CL et al. C-reactive protein levels and clinically important predictive outcomes in stable COPD patients. *Eur Respir J* 2006; 27: 902-907
63. Pasteur MC, Helliwell SM, Houghton SJ, Webb SC, Foweraker JE, An investigation into causative factors in patients with bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1277- 84.
64. <http://immunoloji.uludag.edu.tr>. Uludağ Üniversitesi Çocuk sağlığı ve hastalıkları immünoloji Bilim dalı (01/02/2012)
65. www.guncelpediatrici.com/tr. Güncel Pediatri Dergisi, 2005; 6: 3 :1
66. King PT, Holdsworth SR, Freezer NJ, Villanueva E, Gallagher M, Holmes PW. Outcome in adult bronchiectasis. *J COPD* 2005; 2: 27- 34.
67. Barker AF, Craig S, Bardana EJ. Humoral immunity in bronchiectasis. *Ann Allergy* 1987; 59; 179- 82.
68. Gracia DJ, Rodrigo MJ, Morell F, Vendrell M, Miravilles M, Cruz MJ, et al. IgG subclass deficiencies associated with bronchiectasis. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 650- 5.
69. Kokuludağ A. Sitokinler. İlçin G, Biberoğlu K, Süleymanlar G, Ünal S(editörler). In: İç hastalıkları 2. baskı. Ankara: Güneş Kitabevi 2: 2586-2592, 2005.
70. Balkwill F. Cytokines and cytokine receptors. Roitt I, Brostoff J, Male D(eds). In: Immunology. Sixth edition. Edinburgh, London, New York, Oxford, Philadelphia, St Louis, Sydney, Toronto. Published by Mosby. 119-129, 2001.
71. Pasic J, Levy WC, Sullivan MD. Cytokines in depression and heart failure. *Psychosom Med* 2003;65:181-93.
72. Akira S, Taga T, Kishimoto T. Interleukin-6 in biology and medicine. *Adv Immunol* 1993;54:1–78.
73. Simpson RJ, Hammacher A, Smith DK, Matthews JM, Ward LD. Interleukin-6: structure-function relationships. *Protein Sci* 1997;6:929-55.

74. Nishimoto N, Kishimoto T. Interleukin 6: from bench to bedside. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2006;2:619-26.
75. Habif S. İnflamatuvar Yanıtta Akut Faz Proteinleri. İzmir Atatürk Eğitim Hastanesi Tıp Dergisi 2005;43:55-65.
76. Zhang G, Klein B, Bataille R. Interleukin-6 is a potent myeloma cell growth factor in patients with aggressive multiple myeloma. *Blood* 1989; 74:11-13.
77. Minbay A. Sitokinler ve interferonlar. Minbay A, Aydın N, Akay Ö, İzgür M, Diker S(editörler). In: *İmmunoloji*. 1. baskı Ankara: Medisan Yayınevi, 179-192, 1994.
78. Baykal Y, Karaayvaz M, Kutlu M. İnterlökinler. *T Klin J Med Sci*: 18, 77-84, 1998.
79. Barnes PJ. Novel approaches and targets for treatment of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 72-9
80. Bidwell J, Keen L, Gallagher G, Kimberly R, Huizinga T, McDermott MF, Oksenberg J, McNicholl J, Pociot F, Hardt C, Alfonso SD. Cytokine gene polymorphism in human disease: online databases. *Genes and Immunity* 1999;1;3-19
81. Beeh KM, Beier J, Kommann O, et al. Long term repeatability of induced sputum cells and inflammatory markers in stable, moderately severe COPD. *Chest* 2003; 123: 778-83
82. King, M.W., The medical biochemistry page. <http://web.indstate.edu/thcme/mwking/home.html>. 2004.
83. Hesse, C., B. Anderson, and A. Wold, Gram-positive and gram negative bacteria elicit different patterns of pro-inflammatory cytokines in human monocytes. *Cytokine*, 2005. 30: p. 311-318.
84. The Cytokines Web http://cmbi.bjmu.edu.cn/cmbidata/cgf/CGF_Database/cytweb/cyt_strucs/idex.html, in Cytokines Web 3-D Structures of Cytokines Evolutionary and Topological Relations. 1997, Psynix Information System Ltd.

85. http://www.biocarta.com/pathfiles/h_inflam pathway.asp. İnflamatuvar response.
86. Nagaphushan TL. Interleukin-10 Third international symposium or Cytokines in Hematology. Hannover Germany 1993.
87. Mosmann TR. Properties and functions of Interleukin-10. *Adv Immunol* 1994;56: 1-21.
88. Arock M, Zuany-AC, Singer M, et al. Interleukin-10 inhibits cytokine generation from mast cells. *Eur J Immunol* 1996; 26:166-170.
89. Takanashi S, Hasegawa Y, Kanehira Y, Yarnamoto K, Fujimoto K, Satoh K. Et al. İnterleukin-10 level in sputum is reduced in bronchial asthma, COPD and in smokers. *Eur. Respir J* 1999;14:309-314.
90. Kuralay F, Çavda C. İnflamatuvar medyatörlere toplu bir bakış. *Genel Tıp Derg.* 2006;16(3):143-152.
91. King PT, Hutchinson P, Holmes PW, Freezer NJ, Bennett-Wood V, Robins-Browne R, Holdsworth SR. Assessing immune function in adult bronchiectasis. *Clin Exp Immunol.* 2006 Jun;144(3):440-6
92. Shapira, L., Wilensky, A., Kinane, D.F. (2005). Effect of genetic variability on the inflammatory response to periodontal infection. *Journal of Clinical Periodontology*, 32, 72-86.
93. Takashiba, S., Naruishi, K. (2006). Gene polymorphisms in periodontal health and disease. *Periodontology* 2000, 40, 94-106.
94. Kroeger KM, Carville KS, Abraham LJ. The -308 tumor necrosis factor polymorphism effects transcription. *Mol Immunol* 1997; 34: 391–9.
95. Cuenca J, Perez CA, Aguirre AJ, Schiattino I, Aguillon JC. Genetic polymorphism at position -308 in the promoter region of the tumor necrosis factor (TNF): implications of its allelic distribution on susceptibility or resistance to diseases in Chilean population. *Biol Res* 2001; 34: 237-41.
96. Kroeger, K.M., Steer, J.H., Joyce, D.A., Abraham, L.J. (2000). Effect of stimulus and cell type on the expression of the -308 tumor necrosis factor promoter polymorphism. *Cytokine*, 12, 110-119.

97. Patuzzo C, Gile L.S, Zorzetto M, Trabetti E, Malerba G, Pignatti P.F, Luisetti M. Tumor Necrosis Factor Gene Complex in COPD and Disseminate Bronchiectasis. CHEST 2000; 117: 1353-8.
98. Ferraroti I, Zorzetto M, Beccaria M, Gile LS. Tumour necrosis factor family genes in a phenotype of COPD associated with emphysema. Eur Resp J 2003;21: 444-9.
99. Turner DM, Williams DM, Sankaran D, Lazarus M, Sinnot PJ, Hutchinson I. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. European Journal of Immunogenetics 1997; 24: 1–8.
100. Ma SL, Tang NLS, Lam LCW, Chiu HFK. The association between promoter polymorphism of the interleukin-10 gene and Alzheimer's disease. Neurobiology of Aging 2005; 26: 1005-10.
101. Daniel Fishman, Gary Faulds, Rachel Jeffery, Vidya Mohamed-Ali, John S. Yudkin, Steve Humphries and Patricia Woo. The Effect of Novel Polymorphisms in the Interleukin-6 (IL-6) Gene on IL-6 Transcription and Plasma IL-6 Levels, and an Association with Systemic-Onset Juvenile Chronic Arthritis. J. Clin. Invest. Volume 102, Number 7, October 1998, 1369–1376
102. <http://www.merckmanuals.com>
103. kartagener sendromlu hasta
104. www.pathhsw5m54.ucsf.edu/overview/airway.html
105. www.microscopyu.com/galleries/pathology/index.html
106. <http://hematolojika.com/content2.asp?m1=1&m2=8>