

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
GÖĞÜS HASTALIKLARI ANABİLİM DALI



## **SİGARA BIRAKMANIN İMMÜN SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİ**

Uzmanlık Tezi

Dr. Gül Özlem TÜRKKAN

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Şule AKÇAY

Ankara, 2008

## ÖZET

Sigara içimine bağlı hava yollarında inflamatuvar hücre sayısında artış, hücre alt gruplarında değişiklik ve proinflamatuvar sitokinlerin salınımında artış saptanmaktadır. Sigaranın sitotoksik CD8 T lenfositlerin serum düzeylerinde artışa, immünglobulin (Ig)A, IgG, IgM serum düzeylerinde azalmaya neden olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Kronik sigara içicilerinde ve sigarayı bırakmış olanlarda T lenfositler, T lenfosit alt grupları ve T helper (Th)1-Th2 yolağı üzerindeki değişimin etkisini inceleyen yeterli sayıda çalışma mevcut değildir. Çalışmamızın amacı; sigara içenlerde ve sigarayı bırakanlarda hiç sigara kullanmamış sağlıklı kişilere göre indüklenmiş balgamda B ve T lenfositlerin etkilenme düzeylerini saptamak ve Th1-Th2 dengesi üzerine T regülatör sitokinlerden IL-10'un etkisini araştırmaktır.

Çalışmamıza bilinen sistemik hastalığı olmayan 46 kişi alındı. Olgular sigara içme özelliklerine göre üç gruba ayrıldı. Sigara içen grubu en az 5 paket-yılı sigara içme öyküsü olan olgular oluşturdu. Sigarayı bırakan grubu sigarayı en az bir yıldır içmeyen olgular, sigara içmeyen kontrol grubunu ise sağlıklı hiç sigara içmemiş olgular oluşturdu. Aktif enfeksiyon olmadığını göstermek amacı ile tüm olgularda tam kan sayımı, C- reaktif protein (CRP) düzeyleri, akciğer grafileri değerlendirildi. Çalışmaya alınan olgularda, total eozinofil düzeyleri incelendi ve tam kan sayımı yapıldı. Çalışmaya alınan tüm olgular solunum fonksiyon testi ile değerlendirildi. Atopi değerlendirilmesi için cilt testi uygulandı. Tüm olgulardan indükte balgam örnekleri alındı. İndükte balgam örneklerinde; toplam hücre sayısı, hücre canlılığı, hücre dağılım yüzdesi, immünglobulin düzeyleri, sitokin düzeyleri ve lenfosit alt grupları değerlendirildi.

Olguların tamamında cilt testleri negatif saptandı ve 3 grupta serum total eozinofil sayıları arasında fark yoktu. Olgular arasında indükte balgam toplam hücre sayısı, hücre canlılığı, lenfosit alt grupları değerlendirmesi sonucu istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptanmadı. Çalışmalar ile farklı olarak hücre dağılımı incelendiğinde, sigara içenlerde indükte balgam eozinofil oranları diğer iki gruptan anlamlı olarak düşük saptandı ( $p<0,05$ ). Bu farklılık çalışmaya alınan sigara içicilerinin uzun süreli sigara içme öyküsü olmamasına bağlandı. İndükte balgam sitokin düzeyleri değerlendirildiğinde çalışmalar ile benzer olarak IL-4 düzeyleri sigara içenlerde anlamlı şekilde yüksek bulundu ( $p<0,001$ ).

Çalışmamızda aktif sigara içen grupta ortalama IL-4 düzeyi sigarayı bırakmış ve hiç sigara içmemiş olgulara göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmasına rağmen, olgularımızda literatürde belirtildiği şekilde allerjik semptom ve bulgulara rastlanmamıştır. Çalışmamızda sigara içme süresindeki artış ile korele olarak IL-10 düzeylerinde artış saptandı ( $p<0,05$ ). Bu durumun, sigaranın immünolojik uyarıcı etkisiyle CD25+ Treg lenfositlerin aktivasyonu ile sigara içen bireylerde Th1 ve Th2 lenfosit fonksiyonlarını kontrol altında tutmak amacıyla olduğu düşünüldü. Olgularımızda indükte balgam IgG ve IgE düzeyleri arasında anlamlı fark saptamazken, sigarayı bırakan olgularda anlamlı olarak IgA düzeylerinde artış saptandı ( $p<0,001$ ). Bu artışın, sigaranın bırakılmasını takiben havayolu epitel hücrelerinin fonksiyonlarını yeniden kazanarak immün yanıtta etkili IgA sentezini artırmalarına bağlı olabileceği düşünüldü. IL-4 düzeylerinin sigarayı bırakanlarda sigara içmeyenlere yakın düzeylere düşmesi, sigarayı bırakmanın havayolu inflamasyonunu azalttığını düşündürmüştür.

Anahtar kelimeler: Sigara, immün sistem, indükte balgam

## İNGİLİZCE ÖZET

### **Effects of Smoking Cessation on Immune System**

Smoking increases inflammatory cells, changes cell subgroups and increases secretion of proinflammatory cytokines in airways. It has been showed in studies that smoking causes increase in serum levels of cytotoxic CD8 T lymphocyte and decrease in serum levels of immunoglobulin (Ig)A, IgG, IgM. Enough number of studies determining the changes on T lymphocytes, subgroups of T lymphocytes and pathway of T helper (Th)1-Th2 in chronic smokers and ex-smokers has not been found. The aim of our study was to detect the influence level of B and T lymphocytes in induced sputum of subjects who were active smokers and ex-smokers compared with healthy non-smoker subjects and to investigate the effect of IL-10 T regulatory cytokine on Th1-Th2 equilibrium.

46 subjects with no known systemic diseases were enrolled to our study. Subjects were divided into three groups according to smoking status. The group of smokers was composed of subjects with at least 5 pack-year smoking history. The group of ex-smokers was composed of subjects who were not smoking at least one year. The group of non-smokers was composed of healthy subjects with no smoking history. All subjects were examined with total blood count, C-reactive protein (CRP) levels and chest x rays in order to determine the absence of an active infectious status. Total eosinophil levels and total blood count tests of all subjects were ordered. Pulmonary function tests were performed. Skin prick tests were done to investigate atopy. Total cell count, cellular viability, distribution percentage of cells, immunoglobulin levels, cytokine levels and lymphocyte subsets of induced sputum samples of all subjects were analyzed.

Skin prick tests of all subjects were negative and there was no difference total eosinophil counts in three groups. There were no statistically significant differences in total cell count, cellular viability, and lymphocyte subsets of induced sputum samples between subjects. When we examined distribution of cells, unlike previous studies, eosinophil percentages of induced sputum samples were found significant lower in smokers than the other two groups ( $p<0.05$ ). This result was attributed to short smoking history of subjects in our study. When cytokine levels of induced sputum samples were

examined, like previous studies IL-4 levels were significantly high in smokers ( $p < 0.001$ ). However mean IL-4 levels in the group of smokers were found significantly higher than ex-smokers and non-smokers, our subjects had no allergic symptoms and signs unlike mentioned in literature. Smoking duration was correlated with the increase in levels of IL-10 in our study ( $p < 0.05$ ). This result might be due to CD25+ Treg lymphocyte activation as an immunologic stimulatory effect of smoking to control Th1 and Th2 lymphocyte functions. Though there were no significant differences in induced sputum IgG and IgE levels of our subjects, significant increase in levels of IgA of ex-smokers was found ( $p < 0.001$ ). This increase might depend on regaining functions of airway epithelium following smoking cessation and increasing IgA synthesis that is effective in immune response. Decrease of IL-4 levels in ex-smokers near the levels in non-smokers was thought due to decrease of airway inflammation following smoking cessation.

Key words: Smoking, immune system, induced sputum.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İç Kapak.....	ii
Özet.....	iii
İngilizce Özet.....	v
İçindekiler.....	vii
Şekiller .....	ix
Tablolar.....	x
Teşekkür.....	xi
Simgeler ve Kısaltmalar.....	xii
1. Giriş ve Amaç.....	1
2. Genel Bilgiler.....	3
2.1. Sigara .....	3
2.1.1. Epidemiyoloji	
2.1.2. Sigaranın Sistemler Üzerine Etkileri	
2.1.3. Sigaranın Hematolojik Sistem Üzerine Etkileri	
2.1.4. Sigaranın Pulmoner Etkileri	
2.1.5 Sigaranın İmmün Sistem Üzerine Etkileri	
2.2. İmmün sistem.....	11
2.2.1 İmmün Yanıtta Rol Alan Hücreler	
2.2.2 İmmünglobulinler	
2.2.3 Sitokinler	
3. Gereç ve Yöntem.....	24
3.1. Olgu Seçimi .....	24
3.2. Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü.....	24
3.3. Ekspiryum Havasında Karbon Monoksit Ölçümü.....	25
3.4. Solunum Fonksiyon Testleri .....	25
3.5. İndükte Balgam Analizi.....	25
3.5.1. Gerekli Malzeme ve Gereçler	
3.5.2. Balgam indüksiyonu	

3.5.3. İndükte balgamın işlenmesi	
3.5.4. İndükte Balgam Sitokin Düzeyi Ölçümü	
3.5.5. İndükte Balgam İmmünglobulin Düzeyi Değerlendirilmesi	
	Sayfa
3.5.6. İndükte Balgam Lenfosit Altgrup Analizi	
3.6. Alerji Deri Testinin Uygulanması.....	27
3.7. İstatistiksel yöntem.....	28
4. Bulgular.....	29
5. Tartışma.....	38
6. Sonuç.....	46
7. Kaynaklar.....	47

## ŞEKİLLER

	Sayı
Şekil 4.1. Olgularda COppm düzeyleri.....	32
Şekil 4.2. Olgularda COHb düzeyleri.....	32
Şekil 4.3. Sigara içme süresi ile viabilite ilişkisi.....	33
Şekil 4.4. Sigara içme süresi ile IL-10 düzeyi ilişkisi .....	36



## TABLolar

	Sayfa
Tablo 2.1. Sigara dumanında bulunan bazı zararlı maddeler.....	4
Tablo 2.2. Sigara içenlerde oluşabilecek hastalıklar.....	5
Tablo 2.3. Sigarayla ilişkili ölümcül hastalıklar.....	6
Tablo 2. 4. Sigaranın hematolojik etkileri.....	7
Tablo 2. 5. Sigara ile ilişkili akciğer hastalıkları.....	8
Tablo 2.6. Sigaranın akciğerlerdeki patofizyolojik etkileri.....	9
Tablo 2.7. Sigaranın immün sistem üzerine olan etkileri.....	11
Tablo 2. 8. İmmün yanıtta rol oynayan organlar.....	12
Tablo 2.9. Th1 ve Th2 lenfosit alt grupları arasındaki önemli farklar.....	16
Tablo 2.10. Bazı önemli sitokinler ve hücre kaynakları.....	21
Tablo 3. 1. Ekshale CO değerlerine göre sigara tüketiminin değerlendirilmesi.....	25
Tablo 4. 1. Olguların genel özellikleri.....	29
Tablo 4. 2. Cinsiyetlere göre lenfosit alt gruplarının dağılımı.....	30
Tablo 4. 3. Sigara içme durumlarına göre olgular.....	31
Tablo 4. 4. Solunum fonksiyon testi sonuçları.....	32
Tablo 4. 5. İndükte balgam hücre dağılımı.....	34
Tablo 4. 6. İndükte balgam immünglobulin düzeyleri.....	35
Tablo 4. 7. İndükte balgam sitokin düzeyleri.....	36
Tablo 4. 8. İndükte balgam lenfosit alt grupları değerlendirilmesi.....	37

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince eğitimime yaptıkları değerli katkılarından dolayı başta Başkent Üniversitesi Rektörü Prof. Dr. Mehmet Haberal olmak üzere, eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini paylaşan değerli hocam Göğüs Hastalıkları ve Tbc. Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Füsun Öner Eyüboğlu'na, çalışmamın planlanma aşamasından yazım aşamasına kadar her konuda ilgi ve desteklerini esirgemeyen, eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerini bize aktaran tez danışmanım değerli hocam Doç. Dr. M. Şule Akçay'a, uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım hocam Doç. Dr. Gaye Ulubay'a, eğitimime katkılarından dolayı Uzm. Dr. Şerife Savaş Bozbaş'a, tezimin laboratuvar aşamasında verdikleri destekten dolayı Dr. Nilüfer Bayraktar'a ve Ecz. Ayşegül Haberal'a, çalışmama desteklerinden dolayı solunum fonksiyon testi laboratuvar çalışanı Elif Erdem'e, bölümümüz hemşire ve personellerine, tezimin istatistik aşamasındaki değerli katkılarından dolayı Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan Yrd. Doç. Dr. Ayşe Canan Yazıcı'ya, birlikte çalıştığım tüm asistan arkadaşlarıma, çalışmaya katılan tüm hasta ve sağlıklı gönüllülere, çalışmanın gerçekleşmesine katkılarından dolayı içten teşekkür ederim.

Dr. Gül Özlem Türkkan

## KISALTMALAR

<b>ABD</b>	: Amerika Birleşik Devletleri
<b>Ag</b>	: Antijen
<b>Ark</b>	: Arkadaşları
<b>BAL</b>	: Bronkoalveoler lavaj
<b>CD</b>	: Cluster of Differentiation
<b>CRP</b>	: C – reaktif protein
<b>CO</b>	: Karbonmonoksit
<b>CSF</b>	: Koloni stimüle edici faktör
<b>DPT</b>	: Deri prick testi
<b>DTT</b>	: Dithiothreitol
<b>FEV1</b>	: 1.saniyedeki zorlu ekspirasyon hacmi
<b>FVC</b>	: Zorlu vital kapasite
<b>GM-CSF</b>	: Granülosit-monosit koloni stimüle edici faktör
<b>ICAM</b>	: İntersellüler adezyon molekül
<b>IFN</b>	: İnterferon
<b>Ig</b>	: İmmünglobulin
<b>IL</b>	: İnterlökin
<b>KOAH</b>	: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
<b>LT</b>	: Lökotrien
<b>MHC</b>	: Major histokompatibilite kompleks
<b>NK</b>	: Naturel killer
<b>PAF</b>	: Platelet aktive edici faktör
<b>PBS</b>	: Fosfat-tampon solüsyonu
<b>PEF</b>	: Tepe akım hızı
<b>PG</b>	: Prostoglandin
<b>SFT</b>	: Solunum fonksiyon testi
<b>TCC</b>	: Toplam hücre sayımı
<b>TCR</b>	: T hücre reseptörü

**Th** : T helper  
**TGF** : Transforming growth faktör  
**TNF** : Tümör nekrozis faktör  
**TR** : T regülatör  
**Ts** : T supressör  
**TX** : Tromboksan

## 1.GİRİŞ ve AMAÇ

İnsan sağlığını tehdit eden en önemli etkenlerden olan sigara, önlenebilir mortalite ve morbidite nedenlerinden biridir. İçerdiği yaklaşık 4000 kimyasal madde ile insan hayatını tehdit eden sigaranın hücre üzerinde farmakolojik, mutajenik, toksik ve inflamatuvar etkileri vardır.

Sigaranın inflamatuvar süreç üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmalar yayınlanmıştır. Sigara içimine bağlı hava yollarında inflamatuvar hücre sayısında artış, hücre altgruplarında değişiklik ve proinflamatuvar sitokinlerin salınımında artış saptanmaktadır. Sigaranın sitotoksik CD8 T lenfositlerin serum düzeylerinde artışa, immünglobulin (Ig)A, IgG, IgM serum düzeylerinde azalmaya neden olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir.

Kronik sigara içicilerinde ve sigarayı bırakmış olanlarda T lenfositler, T lenfosit altgrupları ve T helper (Th)1-Th2 yolağı üzerindeki değişimin etkisini inceleyen yeterli sayıda çalışma mevcut değildir.

Kandaki lenfositlerin %35-60 kadarını heterojen popülasyona sahip CD4 Th alt grup hücreleri oluştururlar. Bu alt grup T hücreleri ortak bir prekürsör hücreden farklılaşarak gelişirler. Bunlar IL-2 sentezleyen ama henüz IL-4, IFN- $\gamma$  sentezlemeyen saf CD4 T hücre içeren bir havuz oluştururlar ve gelecek immün uyarana göre IFN- $\gamma$  sekrete eden Th1 veya IL-4 sekrete eden Th2 fenotipine farklılaşırlar. Th1 ve Th2 fonksiyon farklılığı önceden belirlenemez; farklılaşma, onları bu tiplerden birine yönlendiren sinyallere bağlıdır ve sitokinlerle kontrol edilir.

CD8 yüzey belirleyicisi taşıyan subpopülasyonda geç duyarlılık reaksiyonlarını ve antikör yapımını inhibe eden T supresör hücreleri ile, sitotoksik fonksiyon yapan efektör T hücreleri bulunur. CD8 T hücre alt grubu da CD4 T hücrelerde olduğu gibi iki farklı gruba farklılaşabilmektedir. Bu hücreler genellikle MHC klas-I molekülleri ile sunulan peptidleri tanırlar. Regülatör/supresör CD8 T hücreleri farklı olarak MHC klas-II molekülleri ile sunulan antijeni tanıyabilir.

İmmün sistem dengesi için CD4/CD8 oranı önem taşır. Çünkü bu hücreler birbirlerinin fonksiyonlarını negatif uyarılarla kontrol ederek immün cevabın optimal düzeyde sürdürülmesini sağlarlar. Normalde CD4/CD8 oranı 1,7-2 civarındadır.

Antijenlerin oral ve nazal yoldan alınması ile oluşan mukozal toleransın mekanizması tartışmalıdır. Bu olay temelde barsakta TGF- $\beta$  sentezleyen Th3 hücreleri ve

akciğerde IL-10 sentezleyen T regülatör hücreleri ile kontrol edilmektedir. Solunum yoluyla alınan antijene maruz kalındığında dendritik hücreler tarafından IL-10 sentezine yönlendirilen T regülatör hücreleri Th hücre aktivitesini baskırlar.

Solunum yolu enfeksiyonları sırasında IFN- $\gamma$  cevabına, IL-10 yapımı da eşlik eder. Bu tip1 sitokin cevabı ile oluşabilecek doku hasarını minimize etmek amacıyla gerçekleşir.

Bu bilgiler ışığı altında çalışmamızın amacı; sigara içenlerde ve sigarayı bırakanlarda hiç sigara kullanmamış sağlıklı kişilere göre indüklenmiş balgamda B ve T lenfositlerin etkilenme düzeylerini saptamak ve Th1-Th2 dengesi üzerine T regülatör sitokinlerden IL-10'un etkisini araştırmaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Sigara

#### 2.1.1. Epidemiyoloji

Aktif ve pasif sigara içimi, tüm dünyada önlenebilir hastalıkların ve ölümlerin başlıca nedeni olup; hem erişkinlerde hem de çocuklarda önemli bir halk sağlığı problemidir (1). Dünyada her yıl 5 milyon kişi sigaradan ölmektedir. ABD’de bu rakam 435.000 kişi olup, her 5 ölümden birisidir. Sigaraya bağlı ölümler yıllar içinde giderek artmaktadır. Ülkemizin de içinde bulunduğu coğrafya, dünya tütün tüketiminde birinci sırayı almaktadır (2).

Erken yaşta sigaraya başlayan kişiler, erişkin çağda daha sık sigaraya bağlı hastalıklara yakalanmakta ve ölmektedirler (3). Gelişmekte olan ülkelerde sigaraya başlama yaşı 12-16 dır (4). Sigara içme oranları yaş yükseldikçe artmaktadır (1). Her gün dünyada 80-100 bin gencin tütün bağımlısı olduğu bildirilmektedir (5).

Erişkin yaştaki kişilerin çoğu 18 yaşından önce sigaraya başlamaktadır (6). Ülkemizde PİAR tarafından 1988 yılında yapılan araştırmada sigara içme prevalansı erkeklerde %62,8, kadınlarda %24,3 bulunmuştur (7). Eğitim düzeyinin artması ile sigara içme oranlarının arttığı aynı araştırma ile gösterilmiştir.

Gelişmiş ülkelerde son yıllarda sigara içimini önleyici çalışmalara bağlı olarak sigara içme prevalansı sabit kalmaktadır. Türkiye’de ise erkeklerde sigara içme prevalansı %11 azalmışken, özellikle genç kadınlarda artış olduğu bildirilmektedir (8).

Ülkemizin de içinde bulunduğu Doğu Avrupa bölgesi dünyada tütüne bağlı ölümlerin %25’inden sorumludur ve 2020 yılında bu bölgedeki erişkin erkekler dünyada erken ölüm riski en yüksek grup olarak öngörülmektedir (9).

Sigara içimi ve buna karşı önlemler alınmazsa, sigaraya bağlı ölümlerin 2025’de 10 milyonu bulacağı beklenmektedir; bu durum özellikle gelişmekte olan ülkeleri etkileyecektir (10). Avrupa genelindeki 51 ülkede ise 1.2 milyon insan tütün ürünleri nedeniyle ölmektedir (11). Sigaranın ülkemizde ise 70.000-100.000 kişiyi öldürdüğü hesaplanmaktadır; bu sayı tüm ölümlerin %14’üdür (12).

Dünya bankası verilerine göre her yıl tütünün yol açtığı ekonomik zarar 200 milyar dolardır. ABD’de sigaraya bağlanabilen tıbbi giderler 50 milyar dolar olarak hesaplanmıştır. İşgücü kaybı ve üretim kaybı da eklendiğinde kayıp 97 milyar dolar olmaktadır. 1998 yılında tıbbi giderlerin maliyeti 75.5 milyar dolara yükselmiş, her sigara

içicisinin toplamda 3.391 dolara mal olduğu ve bunun da ABD’de sağlık giderlerinin %8’ini oluşturduğu belirlenmiştir (13).

Tütünün ülkemize verdiği ekonomik zararın ise yılda 8-10 milyar dolar olduğu hesaplanmaktadır. 2030 yılında sigara içenlerin %80’ini geliştirmekte olan ülkelerdeki insanlar oluşturacaktır ve tütün kullanımına bağlı hastalıkların yol açtığı ekonomik maliyetler, büyük olasılıkla bu ülkelerin sağlık hizmetlerine büyük yükler getirecektir (14, 15).

### 2.1.2. Sigaranın Sistemler Üzerine Etkileri

Sigaranın yanması sırasında 4000 çeşit zararlı madde oluşmaktadır. Bu zararlı maddelerin bir kısmı partikül halinde iken bir kısmı da gaz halindedir. Sigara dumanından her nefes çekme sırasında 300.000 ile 3.5 milyar arasında partikül akciğerlere ulaşmaktadır. Ana akım dumanının %92-95’i gaz fazındadır. Ortalama partikül çapı 0,2-0,5 µm.dir ve solunabilirdir (16).

Tablo 2.1’de sigara dumanında bulunan zararlı maddelerden örnekler verilmektedir. Bu maddelerin hücrel elemanları, proteinleri, lipitleri, DNA’yı tahrip edici, mutasyonlara yol açıcı etkileri vardır. İnflamatuar hücreler, salgı bezleri ve hormonlar, kalp ve damarlar, pıhtılaşma mekanizması üzerinde olumsuz etkileri gösterilmiştir. Bu zararlı etkilerin bazıları akut olarak sigara dumanı ile karşılaşmadan sonra dakikalar içinde ortaya çıkar, bazıları ise yıllarca devam eden kullanımla meydana gelir.

**Tablo 2.1.** Sigara dumanında bulunan bazı zararlı maddeler

<b>Partikül halindeki</b>	<b>Gaz halindeki</b>
Aromatik hidrokarbonlar	Karbon monoksit
Nikotin	Karbonil sülfid
Fenol	Benzen
Krezol	Formaldehit
Beta –Naftilamin	3-Vinilpiridin
N-Nitrozonornikotin	Hidrojen siyanit
Benzopiren	Nitrojen oksitler
Metaller (Nikel, arsenik vb.)	Hidrazin
İndol	N-nitrosodimetilamin
Karbazol	N-nitrosopirrolidin
Katekol	
Tar (Katran)	
Kadmium	
Polonium-210	
NNK (4-methylnitrosamino-3-pyridyl-1-butanone)	



Sigara başta akciğer kanseri, KOAH ve koroner arter hastalığı gibi hastalıklar olmak üzere çok sayıda sağlık sorununa da yol açar. Ergenlik çağında sigara içmeye başlayan ve uzun süredir düzenli sigara içen kişilerin yarısı, sigaradan ölmektedir. Sigara içen kişilerin yaşam süreleri içmeyenlerden 20-25 yıl daha kısadır (17). 2020 yılında sadece tütüne bağlı ölüm yükünün % 9 olacağı tahmin edilmektedir (18). Sigaranın akciğer kanseri, KOAH, koroner arter hastalığı, periferik ateroskleroz, beyin damar hastalıkları başta olmak üzere 50 kadar kronik hastalığın nedeni olduğu gösterilmiştir (Tablo 2.2) (19).

Sigarayla ilişkili ölümcül hastalıklar da tablo 2.3’de özetlenmiştir. Sigara içimi tüm kronik akciğer hastalıklarının %80’inden, kalp hastalığı ve kansere bağlı ölümlerin üçte birinden sorumludur (20).

**Tablo 2.2** Sigara içenlerde oluşabilecek hastalıklar

<b>Sigara içenlerde riski artmış hastalıklar</b>	
Akut ülserli dişeti hastalığı Kalp spazmı Sırt ağrısı Burger hastalığı Duodenum ülseri Katarakt Kolon polipler Crohn hastalığı Depresyon Tip 2 diabet İşitme kaybı Grip İmpotans Görme siniri hastalığı Eklem bağ zedelenmesi Maküla dejenerasyonu	Kas zedelenmesi Boyun ağrısı Nistagmus Göz içi mantar hastalıkları Osteoporoz Ereksiyon bozukluğu Periferik damar hastalığı Pnömoni Psöriazis Cilt kırışıklığı Gastrik ülser Romatizma Tendon zedelenmesi Tütün körlüğü Diş dökülmesi Tüberküloz
<b>Sigara içenlerde işlev bozuklukları</b>	
Ejakülasyon (hacim azalması) Doğurganlık azalması Bağışıklık sistemi bozulması Erken menopoz	Sperm sayısı azalması Sperm hareket azalması Spermin yumurta dölleme yeteneğinde azalma Sperm şekil bozuklukları
<b>Sigara içicilerde bulguları daha ağır olan hastalıklar</b>	
Astım Kronik nezle Diabetes mellitus, görme bozukluğu Nezle İltihabi bağırsak hastalıkları Grip	Grave’s hastalığı Multiple skleroz Görme sinir iltihabı Pnömoni Tüberküloz

**Tablo 2.3.** Sigarayla ilişkili ölümcül hastalıklar

<b>Sigaraya bağlı ölümcül hastalıklar</b>		
<b>Kanserler</b>	<b>Kalp ve dolaşım</b>	<b>Akciğer</b>
Akciğer	Koroner arter hastalığı	KOAH
Ağız ve larinks	Aort anevrizması	Pnömoni
Özefagus	Kalp kası dejenerasyonu	Tüberküloz
Mesane	Ateroskleroz	İnterstisyel akciğer hastalıkları
Böbrek	Serebrovasküler hastalıklar	
Mide		
Pankreas		
Primeri bilinmeyen tümör		
Lösemi		
Meme		

### **2.1.3. Sigaranın Hematolojik Sistem Üzerine Etkileri**

Sigaranın hematolojik sisteme etkileri akut ve kroniktir. Nedeni ve mekanizması net olarak bilinmemesine rağmen akut sigara içimi periferik kanda lökosit, eozinofil ve trombosit sayısında artışa neden olmaktadır. Yapılan bir çalışmada sigaranın bırakılmasından 5 yıl sonra kanda hematolojik parametrelerin normale döndüğü gösterilmiştir (21).

Sigara dakikalar içinde lökositlerin ve trombositlerin damar duvarına adezyonunu artırır. Bir çalışmada, ateroskleroz patogenezinde etkili olan nötrofil ve endotel hücrelerden köken alan intersellüler adezyon molekül-1 (sICAM-1), sigara içenlerin serumlarında yüksek bulunmuştur. Bunun sigara-ateroskleroz ilişkisini göstermede nonspesifik bir gösterge olabileceği düşünülmüştür (22).

Sigara dumanındaki CO'in hemoglobine olan yüksek afinitesinden dolayı, oksijen taşınmasında azalma ve oksijen disosiyasyon eğrisinde sola kayma ortaya çıkmaktadır. Sonuçta doku hipoksisine cevaben salınımı artan eritropoetin periferik eritrosit sayısında artış ve sekonder polisitemi oluşturur. Sigara içenlerin hematokrit değerlerinin yükselmesinin diğer bir nedeni olarak, bu kişilerde plazma hacminin azalması da sorumlu tutulmaktadır (23). Sigaranın hematolojik etkileri tablo 2. 4.'de özetlenmiştir.

**Tablo 2. 4.** Sigaranın hematolojik etkileri

Artış	Azalma
<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Periferik lökosit sayısı</li><li>▪ Periferik eritrosit sayısı</li><li>▪ Periferik trombosit sayısı</li><li>▪ Periferik eozinofil sayısı</li><li>▪ Tromboksan salınımı</li><li>▪ Trombosit agregasyonu</li><li>▪ Fibrinojen seviyesi</li><li>▪ Faktör VII seviyesi</li><li>▪ Plasma viskozitesi</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Trombosit yaşam süresi</li><li>▪ Kanama zamanı</li><li>▪ Prostaglandin salınımı</li></ul>

#### 2.1.4. Sigaranın Pulmoner Etkileri

Sigara içimi en önemli önlenebilir hastalık nedenlerinden biridir. Birçok organı etkilemekle birlikte, toksik maddelerin inhalasyonla alınması nedeniyle en sık akciğer hasarına neden olmaktadır. Sigara ile akciğer hastalıkları arasındaki bağlantı ilk kez 1870 yılında konu edilmiştir. Bilimsel anlamda ilk yayın ise, 1964 yılında Amerikan Cerrahlar Birliği tarafından sunulan ve sigara-amfizem arasındaki ilişkiden bahseden rapordur. Aynı rapor, 1984 yılında ilk defa sigaranın KOAH için majör risk faktörü olduğunu ifade etmiştir (24).

Sigara-hastalık ilişkileri son 50 yılda yayınlanan sayısız bilimsel yayımla kesin olarak belgelenmiştir. Sigara ile ilişkili bazı akciğer hastalıkları tablo 2.5’de özetlenmiştir. Sigaranın içerdiği partiküllerin bölgesel depolanması, akciğer hastalıklarının gelişiminde ilk basamağı oluşturur. Partiküllerin çökme hızı, partikül büyüklüğüne, kişinin akciğer yapı-fonksiyonuna ve nefesin akım hızına bağlıdır (23).

Sigara içimi akciğerlerde merkezi ve periferik havayollarını, alveolleri, kapillerleri ve akciğerin immün sistemini etkiler. Santral hava yollarında en belirgin olarak gözlenen etkisi, akciğer savunma sisteminde önemli bir yeri olan siliaların sayısında ve fonksiyonlarında azalma yapmasıdır. Sigaranın içindeki CO, N<sub>2</sub>O ve SO<sub>2</sub> gazları silia üzerinde direkt toksik etki göstermektedir (25). Silia fonksiyonunun bozulması ve mukus salgısının artışı, bakteriyel aderens artışına yol açar.

Sigara içimi ile solunum epitel hasarı, skuamöz metaplazi ile başlamakta ve sigara içilmeye devam edildiğinde karsinoma in situ ile sonuçlanmaktadır (23). Birçok çalışmada

yalancı çok katlı silialı epitelin skuamöz metaplazi, karsinoma in situ ve invaziv bronkojenik karsinomaya aşama aşama dönüştüğü gösterilmiştir (12).

**Tablo 2. 5.** Sigara ile ilişkili akciğer hastalıkları

*Hastalık insidansı veya ciddiyeti artan hastalıklar*

- Akciğer kanseri
- KOAH
- Astım
- Bakteriyel pnömoni
- Tüberküloz
- Varisella pnömonisi
- Pulmoner hemoraji
- Pulmoner metastatik hastalıklar
- Langerhans hücreli histiyositozis
- Respiratuar bronşiyolitis-ilişkili intertisyel akciğer hastalığı
- Deskuamatif interstisyel pnömoni
- İdyopatik pulmoner fibrozis
- Asbestozis
- Romatoid artrit ilişkili intertisyel akciğer hastalığı

*Hastalık insidansı veya şiddeti azalan hastalıklar*

- Sarkoidozis
- Hipersensitivite pnömonisi

Sigara alt solunum yollarının hemen her yerinde patofizyolojik değişikliklere yol açmaktadır (Tablo 2. 6). Bunlar peribronşiyal inflamasyon ve fibrozis, epitel yapı ve fonksiyonunda değişiklikler, vasküler intimal kalınlaşma ve alveoler harabiyettir. Fonksiyonel bozukluklar inhale edilen maddelerin klirensinde bozulma, patojen aderensinde artış, anormal vasküler ve epitelyal permeabilite artışıdır (26).

**Tablo 2.6.** Sigaranın akciğerlerdeki patofizyolojik etkileri

<u>Santral hava yolları</u>	<u>Periferik havayolları</u>	<u>Alveol ve kapiller düzeyde</u>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Silia kaybı</li><li>• Mukus hücre hiperplazisi</li><li>• Goblet hücre azalması</li><li>• Solunum epitelinde histolojik değişiklikler</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• İnflamasyon ve atrofi</li><li>• Goblet hücre metaplazisi</li><li>• Skuamöz metaplazi</li><li>• Mukus tıkaçları</li><li>• Düz kas hipertrofisi</li><li>• Peribronşiyal fibrozis</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Peribronşiyal alveolar kayıp</li><li>• Küçük arter sayısında azalma</li><li>• Aktive makrofaj ve nötrofillerin sayısında artış</li><li>• IgA-IgG seviyesinde azalma</li></ul>

Sigara içenlerde birçok solunum fonksiyon bozukluğu geliştiği saptanmıştır. Genel olarak sigara içenlerin FEV<sub>1</sub> değerleri daha düşük, FEV<sub>1</sub> azalma hızı daha fazladır (28). Bu her iki etki de doz-yanıt ilişkisi gösterir ve kadında erkeğe göre daha dramatik olduğuna ilişkin kanıtlar vardır.

Solunumsal yakınmalar sigara içicilerinde belirgin şekilde artmıştır. Kronik öksürük, balgam, hırıltı ve dispne arasında doz-yanıt ilişkisi vardır. Havayolu epitelinde silier kayıp, müköz bez hipertrofisi, goblet hücre sayısında artış ve permeabilite artışı bu semptomlardan sorumlu olan değişikliklerdir (27).

KOAH'ın gelişiminde sigaranın içerdiği serbest radikaller ve peroksidaz, solunum yollarında hücresel düzeyde görülen pek çok değişiklikten sorumlu tutulmaktadır (23). Serbest radikaller ve peroksidaz ayrıca nötrofil elastazın salınımını artırmak suretiyle goblet hücre hiperplazisine, epitel hasarına, IL-8 artışına ve mukus hipersekresyonuna neden olmaktadır (28). Kalıcı harabiyet sonucu sigara bırakıldıktan sonra bile mukus hipersekresyonu olan hastalarda mukus üretimi normale dönmeyebilir.

Bronkoalveoler lavaj (BAL) çalışmalarında sigara içenlerde toplam hücre sayısının birkaç kat arttığı, bunların da özellikle alveoler makrofajlar ve polimorfonükleer lökositler olduğu gösterilmiştir (26, 29).

Sigara pulmoner inflamatuvar hücrelerin görünüm ve fonksiyonunu da etkilemektedir. Sigara içenlerden elde edilen alveoler makrofajlar daha büyüktür, yüzey morfolojisi ve intrasitoplazmik inklüzyonlar farklıdır ve antijen sunma fonksiyonları değişiktir. BAL sıvısında proinflamatuvar sitokin ( IL -1beta ve IL-8) düzeyleri sigaranın dozuna bağlı olarak daha yüksektir (26) . Sigara içicilerinde azalmış IgA ekspresyonuna bağlı olarak alveolar makrofajların antijen sunumlarında ve T lenfositlerin aktivasyonlarında defektler olduğu izlenmiştir (30).

### 2.1.5. Sigaranın İmmün Sistem Üzerine Etkileri

Üst ve alt solunum yolu enfeksiyonları başta olmak üzere bir çok enfeksiyona zemin hazırlaması, sigaranın immün sistem üzerinde ciddi etkisi olduğunu düşündürmektedir. Bunun yanı sıra başta akciğer kanseri olmak üzere diğer organ kanserlerinin, alerjik hastalıkların ve aterosklerozun gelişiminin sigaranın hücrel ve humoral immün sistem üzerinde yaptığı değişikliklerin etkisiyle oluştuğu da düşünülmektedir.

Sigaranın metabolitleri oksidatif stress oluşturmakta ve immün sistem aktive olmaktadır (23). Sigara içen insanların bronkoalveolar lavajlarında (BAL), saptanan HQ3 ve katekol T hücrelerinin mitojenlere verdiği cevabı azaltmaktadır (31). Mc Cue ve ark. Yaptıkları çalışmada, sigaradaki tarın ribonükleotid reduktazı inhibe ederek lenfosit proliferasyonunu azalttığını rapor etmiştir (32). On yıldan fazla sigara içen erkeklerde periferik kanda serum immunglobulin, lizozim ve CD16+doğal öldürücü hücre sayısında düşüklük saptanmıştır. IL-16, CD8+ T hücrelerinden salgılanır ve bulunduğu bölgeye lenfosit göçünü artırır. Laan ve ark. yaptıkları çalışmada, sigara içen kişilerde BAL'da IL-16 seviyesini yüksek bulmuşlardır (33). Sigara içen kişilerde bronş assosiyel lenfoid dokunun (BALT) sigaradaki antijenik yapıdaki moleküllere karşı geliştiği ve sigara içmeyenlerde bu dokunun oluşmadığı belirtilmektedir (23).

Ağır sigara içicilerin, mukozal yüzeylerinde ve BAL'da Ig A seviyesi düşük bulunmuştur. Bu kişilerde epitelyal baş ve boyun tümörlerinin görülme sıklığının arttığı bilinmektedir. Diğer yandan, sigara mukus kalitesinde ve içeriğinde meydana getirdiği değişiklikler nedeniyle kronik zeminde, mikroorganizmaların özellikle solunum epiteline bakteriyel aderenste artış olduğu bilinmektedir.

Langerhans hücreleri deri ve oral mukozada yoğunlukta olup hücrel immunitede oldukça önemli hücrelerdir. Sigara içenlerde, oral kavite ve deride Langerhans hücrelerinde azalma saptanmıştır (23).

Hücrel immünitinin önemli hücrelerinden biri olan alveolar makrofajların yapı ve fonksiyonları sigaradan negatif olarak etkilenir. Sigara içen kişilerin alveolar makrofajlarında, morfolojik değişikliğin bir belirtisi olan inklüzyon cisimcikleri gelişir. Alveolar makrofajların öldürme ve fagositik fonksiyonları sigara ile azalır (24).

Lizozim, enfektif mikroorganizmalara verilecek nonspesifik immün cevapta önemli bir enzimdir. Fagositik hücrelerin yapımını, kompleman sisteminin ve properdinin aktivasyonunu sağlayan lizozim, uzun süre sigara içen erkeklerde düşük bulunmuştur (23). Tablo 2. 7'de sigaranın immün sistem üzerine etkileri özetlenmiştir.

**Tablo 2.7.** Sigaranın immün sistem üzerine olan etkileri

<b>Azalma</b>	<b>Artış</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>▪ CD4+T hücre sayısı ve cevabı</li><li>▪ Doğal öldürücü hücre (NK) sayısı</li><li>▪ Alveolar makrofaj fonksiyonları</li><li>▪ Makrofajların IL-1 salınımı</li><li>▪ IgG ve IgA seviyesi</li><li>▪ Langerhans hücre sayısı</li><li>▪ Nötrofil fonksiyonu</li><li>▪ Serum lizozim seviyesi</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>▪ CD8+T hücre sayısı</li><li>▪ IL-8 seviyesi</li><li>▪ IL-16 seviyesi</li><li>▪ LTB4 seviyesi</li><li>▪ Nötrofil elastaz seviyesi</li><li>▪ Nötrofil katepsin seviyesi</li><li>▪ Alveolar makrofaj sayısı</li></ul>

## 2.2 İmmün sistem

En basit yapıya sahip canlılarda bile kendinden olanı tanıma, yabancıyı ayırt edebilme özelliği mevcuttur. Evrimsel açıdan en gelişmiş canlı olan insan da kendi yapısına yabancı olan maddeleri (antijenleri) tanıyabilme ve onlarla baş edebilme özelliklerine sahiptir. Bu sayede mikroplar başta olmak üzere yabancı ve zararlı olabilecek maddelere karşı kendisini savunur (34).

Genelde antijen olarak tanımladığımız bu maddelerin organizmaya girmesi ile başlayan ve birbiri ile ilişkili birçok biyolojik reaksiyonun meydana geldiği bağışıklık yanıtı olayında, birçok sistem, organ ve hücre görev alır. Bağışıklık olaylarında rolü olan organ ve hücrelere bağışıklık sistemi (immün sistem) adı verilir. Bu sistemin asıl görevi yabancı antijenleri (Ag) tanımak ve kendisine zarar vermesini engellemek üzere onları yok etmektir. Bunun için ortaya çıkan olaylar dizisi de immün cevabı oluşturur. Bağışık yanıt özünde hücresel bir olaydır ve temel görev lenfositlerindir.

İmmün hücreler kemik iliğindeki kök hücreden farklılaşarak gelişirler. Kemik iliği kök hücrelerinin immünolojik olarak etkin hücre haline gelebilmesi için önce santral lenfoid organlarda olgunlaşması gerekir. Gelişimi tamamlanan, olgun T ve B lenfositler daha sonra periferik lenfoid organlara gidip yerleşerek antijenle karşılaşmayı bekler ve gerektiği zaman (antijenle karşılaşınca) bağışıklık yanıtı oluştururlar (34).

İmmün sistemin yapısı lenfoid organlar, hücresel yapı, humoral yapı olmak üzere 3 gruptan oluşur. Kemik iliği ve timus santral lenfoid organları; dalak, lenf düğümleri, tonsiller ve diğer lenfoid dokular da periferik lenfoid organları oluşturur.

**Tablo 2. 8.** İmmün yanıtta rol oynayan organlar

<i>Santral lenfoid organlar</i>	<i>Periferik lenfoid organlar</i>
-Kemik iliği	-Lenf düğümleri
-Timus	-Dalak
	-Mukoza ile ilgili lenfoid dokular

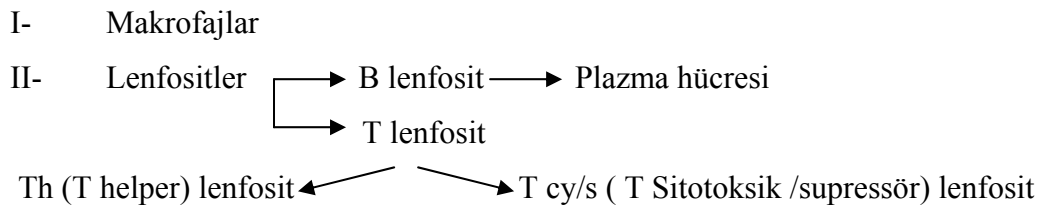
Hücre sel yapıda görevli kan hücrelerinin gelişimi kemik iliğinde pluripotent kök hücrelerinden başlar. Pluripotent kök hücrelerinden belli bir serideki hücreleri oluşturmaya atanmış daha spesifik unipotent kök hücreler gelişir. Bu kök hücreler in vitro ve in vivo koloni oluşturma yeteneğine sahiptirler (colony forming unit; CFU). Hem monositlerin hem de granülositlerin ortak prekürsör (kaynak) hücreden türedikleri düşünülmektedir (34).

Siklinler, kofaktörleri olan siklin bağımlı kinazlar ile kombine olarak hücre proliferasyonunun ve CD34+ hematopoetik kök hücrelerden eritroid, miyeloid ve megakaryosit serilerinin gelişimini regüle etmede önemli rol oynarlar. Böylece unipotent kök hücre (CFU-GM), çeşitli hücrelerden salınan glikoprotein yapısındaki granülosit koloni stimüle edici faktör (G-CSF), granülosit-monosit koloni stimüle edici faktör (GM-CSF), makrofaj koloni stimüle edici faktör (M-CSF) ile T lenfositlerinden salınarak CSF gibi etki yapan IL-3, IL-4, IL-5, IL-6 ve IL-7 gibi hematopoetik etkili çeşitli faktörlerin uyarısı ile bir dizi çoğalma ve farklılaşmaya uğrar.

İmmün sistemin hücre sel yapısını oluşturanlar; nötrofiller, monosit ve makrofajlardan oluşan fagositler, bazofiller ve mast hücreleri, eozinofiller, dendritik hücreler, foliküler dendritik hücreler, T ve B lenfositler, NK hücreleri ve major histokompatibilite kompleksidir.

Hü mor al immünitenin elemanları ise immünglobulinler, kompleman sistemi, sitokinler ve araşidonik asid türevleridir (34).

### 2.2.1 İmmün Yanıtta Rol Alan Hücreler





- III- Doğal öldürücü ( Natural Killer=NK) Hücreler
- IV- Diğer Hücreler - Nötrofiller
  - Eozinofiller
  - Bazofiller ve mast hücreleri
  - Trombositler

### **Makrofajlar**

Tek çekirdekli olup (mononükleer), fagositik aktivite gösteren hücrelerdir. Vücudumuzda doku ve organlarda yaygın olarak bulunurlar. Bu hücreler buldukları yere göre şöyle adlandırılırlar:

- Kandaki gezgin monositler
- Akciğerlerdeki alveoler makrofajlar
- Seröz boşluklardaki makrofajlar
- Kemik dokudaki osteoklastlar
- Sinir dokusundaki mikroglia hücreleri
- Dalak ve lenf düğümlerindeki makrofajlar
- Bağ dokusu histiyositleri
- Karaciğerdeki Kupffer hücreleri
- Böbrekte mezangial makrofajlar

Makrofajlar 15-20µm çapında hücrelerdir. Lizozomal granüllere ve bakterisidal maddelere sahiptirler. Bu granüllerin çoğu inflamasyon nedeniyle olgun makrofajların aktivasyonu sırasında oluşurlar. Makrofajlar bağışık yanıtındaki rolleri itibariyle iki tipe ayrılır:

**A - Fagositik Makrofajlar :** Makrofajlar, organizmada bulunan ve temizlenmesi gereken madde, mikroorganizma ve tümör hücrelerini fagositoz yaparak ortadan kaldırırlar.

**B - Antijen Sunucu Hücreler (ASH) :** Bu hücreler antijen ile ilk karşılaşan ve onları lenfositlere sunan hücreler olarak bağışık yanıtta ilk adımı başlatan hücrelerdir.

Makrofajlar yüzeylerinde başlıca IgG, C3b ve lenfokinler için reseptörler; kemotaktik faktörler için reseptörler ve diğer (non-immün) molekülleri bağlayan reseptörler ile MHC klas-II molekülleri taşırlar. Bu hücrelerin düşük yoğunlukta CD4 yüzey belirteçleri eksprese ettikleri de gösterilmiştir.

Makrofajlar çeşitli uyananlarla aktive olduklarında IL-1, IL-6, IL-12, IL-15, TNF, CSF gibi sitokinleri sentezlemektedirler. IFN-γ, TNF ve GM-CSF gibi sitokinler, makrofaj

aktive edici faktör olarak etki gösterirler. Aktive makrofajların abartılı etkileri bazı hallerde konak dokularını hasarlayabilirler. IL-10, IL-4 ve TGF- $\beta$ , makrofajların sitotoksik aktivitesini sinerjik olarak inhibe edebilirler (34).

### **Lenfositler**

Lenfositler 8-12 mikron çapında, iri çekirdekli, dar sitoplazmalı hücrelerdir. Lenfositlerin büyük çoğunluğu lenfoid organlarda bulunur. Periferik kanda, lökositlerin %20-30 kadarını lenfositler oluştururlar. İmmün sistemin çok önemli hücreleridir. Kemik iliğindeki kök hücrelerden gelişirler. Santral lenfoid organlarda (timus veya kemik iliği) olgunlaşırlar. Kan yoluyla periferik lenfoid doku ve organlara giderek özel bölgelerine yerleşirler. Morfolojik olarak birbirlerine çok benzemekle beraber, birbirinden farklı gelişim çizgisi izleyen, görevleri ve antijen yapıları birbirinden farklı iki lenfosit tipi bulunmaktadır (34):

- B lenfositler
- T lenfositler

### **B lenfositler**

B lenfositler hümmoral (antikora dayalı) immüniteden sorumlu hücrelerdir. Kuşlarda Fabricius kesesinde, memelilerde kemik iliğinde olgunlaşırlar. Kandaki lenfositlerin %25'i, dalaktakilerin %50'si B lenfosittir.

B lenfositler sentezledikleri immünglobulin moleküllerini hücre zarında taşırlar ve bu molekül antijene karşı özgül reseptördür. Bu yüzey immünglobulinler IgM ve IgD sınıfı yapı gösterirler. Bir B lenfosit sadece tek bir çeşit antijene (daha doğrusu tek bir epitopa) bağlanabilen yüzey immünglobulin reseptörü taşır. Bu nedenle immün sistemde, zaman içinde karşılaşma olasılığı olan onbinlerce çeşit antijene karşı özgül reseptör taşıyan onbinlerce B lenfosit çeşidi hazır durumda bulunmaktadır.

Organizmaya antijen girdiğinde, yüzeyinde bu antijene özgül reseptör taşıyan B-lenfositleri bulur ve uyarır. Uyarılan B lenfositler başkalaşıma uğrar ve plazma hüccesine dönüşürler. Plazma hüccesi de uyarılan antijene özgül olan çok miktarda antikor (immünglobulin) sentezler. Plazma hüccesinin çoğalma yeteneği yoktur ve ömrü kısadır (~ 2-3 gün). Ancak bir dakikada yaklaşık 20 bin antikor molekülü sentezleyebildiği gösterilmiştir (34).

## **T lenfositler**

T lenfositler hücresel tipte bağışık yanıtta sorumludur. Dolaşımdaki lenfositlerin % 60-80 kadarını T lenfositler oluşturur. Kemik iliğinde yapılan T öncü hücreler timusta olgun T lenfosit haline gelirler. Olgun T hücreleri kan dolaşımına geçerek dalak, lenf nodülleri gibi sekonder lenfoid dokulara giderler. Bu olgunlaşma sırasında T lenfosit yüzeyinde pekçok reseptör yerleşir. T hücre yüzeyinde yüzey immünglobulin bulunmaz. Antijenik peptidlerin tanınması T hücre reseptörü (TCR) ile olur. Bir T lenfosit sadece tek bir çeşit antijen için TCR taşır ve B lenfositlerinde olduğu gibi immün sistemde zaman içinde karşılaşma olasılığı olan onbinlerce çeşit antijene yanıt verebilecek onbinlerce çeşit T lenfosit bulunur.

CD4 ve CD8 farklılaşma belirleyicileri dışında, insan T hücreleri CD2, CD3, CD5, CD28, CD98, CD100 yüzey belirleyicilerini, bazı sitokin reseptörlerini ve ICAM-1 gibi adezyon moleküllerini ekspres ederler. Organizmaya antijen girdiğinde yüzeyinde bu antijene özgül reseptör taşıyan T lenfositleri bulur ve uyarır. Uyarılan T lenfositler başkalaşıma uğrar ve sonuçta o antijene duyarlı T lenfositler oluşur. T lenfositler immün sistemin en önemli hücreleridir ve doğrudan antikora bağımlı olmayan ve hücrelerin yönettiği ve katıldığı özgül immüniteyi oluştururlar. Bağışık yanıtta rolleri açısından T-hücre topluluğunun homojen (tek tip) olmadığı ve yapı ve işlev özelliği farklı olan alt grupların bulunduğu bilinmektedir. Periferik kandaki T hücrelerinin üçte ikisi CD4, üçte biri CD8 yüzey belirleyicileri taşıyan lenfositlerdir (34).

### **T helper (Th) Hücreleri (CD4+T Hücreleri)**

Kandaki lenfositlerin %35-60'ını oluştururlar. CD4+ olan bu hücreler, geç duyarlılıktan sorumlu efektör hücreler ile sitotoksik ve supressör T hücrelerinin olgunlaşmasına yardımcı T hücrelerini kapsar. Bu popülasyonun hücreleri B hücrelerinin antikör yapan plazma hücrelerine dönmelerini de indüklerler.

Bu subset T hücreleri, ortak bir prekürsör hücreden farklılaşarak gelişirler. Bunlar, IL-2 sentezleyen ama henüz IL-4 veya IFN $\gamma$  sentezlemeyen naif CD4+T hücrelerinden oluşan bir havuz oluştururlar ve gelecek immün cevaplara göre, IFN $\gamma$  sekrete eden Th1 veya IL-4 sekrete eden Th2 fenotipine farklılaşırlar. Naif CD4 T hücrelerinin Th1 ve Th2 efektör hücrelere antijenle stimüle edilerek farklılaşması TGF- $\beta$  ve anti- IFN $\gamma$  antikörlerle önlenabilir.

Th1 subset hücreleri, B hücrelerini, yüksek afiniteli Fc $\gamma$  reseptörlerine ve kompleman komponentlerine bağlanan IgG1 ve IgG3 antikörlerini sentezlemeye yöneltir.

Th1 hücrelerinin asıl fonksiyonu, Th1 tipi sitokinlerle makrofajların fagositoz ve mikrop öldürme yeteneklerini güçlendirerek, enfeksiyonlara karşı savunmayı oluşturmaktır (34).

Th2 subset hücreleri ise, B hücrelerini, IgM, kompleman fiske etmeyen IgG4 ve IgE sentezine yöneltirler. Bu hücreler akut ve kronik enflamasyonu ve geç tipte hücre sel aşırı duyarlılığı inhibe ederler. Th2 subpopülasyonundaki lenfositler, IgE dahil, antikor yapımına etkin olarak katılır ve eozinofiliyi uyarırlar.

Th1 subpopülasyonundaki lenfositler ise, asıl sitolitik aktivite gösterirler. Th2 klonlarının esas itibariyle hümoral immün cevapların; Th1 klonlarının ise, sellüler immün cevapların oluşmasında etkin rol oynadıkları anlaşılmaktadır (34).

Th lenfositleri MHC klas-II molekülleri ile sunulan peptidleri tanırlar, antikor yapıcı B hücrelerinin, sitotoksik T hücreleri ve supressör T hücrelerinin aktivitesini şiddetlendirirler. Th hücrelerinin azlığında efektör T ve B hücrelerinin antijene cevabı zayıf olur. Bu hücreler ayrıca çeşitli lenfokinler salgılayarak, T hücrelerin, monosit ve makrofajların ve diğer bazı hücrelerin sayıca ve etkinlikçe güçlenmelerini sağlarlar. Bu nitelikleri ile Th lenfositleri immün orkestranın şef hücreleridir (34).

**Tablo 2.9.** Th1 ve Th2 lenfosit alt grupları arasındaki önemli farklar

Sitokin profili	Th1	Th2
IFN- $\gamma$	++	-
TNF- $\beta$	++	-
IL-2	++	-
IL-3	++	++
IL-4	-	++
IL-5	-	++
IL-6	-	++
IL-10	-	++
IL-13	-	++
GM-CSF	++	+
Major fonksiyon	Geç tipte aşırı duyarlılık Makrofaj aktivasyonu Sitotoksiste Sınırlı B hücre yardımı Sınırlı B hücre inhibisyonu	B hücre yardımı Atopi, alerji

## **CD8+ T hücreleri**

CD8 yüzey belirteci taşıyan subpopülasyonda geç duyarlılık reaksiyonlarını ve antikor yapımını inhibe eden “T supressör” hücreleri ile “sitotoksik”(sitolitik) fonksiyon yapan efektör T hücreleri bulunur. Bu hücreler genel olarak MHC klas-I molekülleri ile sunulan peptidleri tanırlar. Bazı CD8+ hücrelerinin IL-1, IL-10 ve TGF- $\beta$  gibi potent immünregülatör sitokin salgıladıkları bilinir.

Sitotoksik T lenfositleri virus, parazit ve bakteri ile enfekte hücreler, tümör hücreleri, doku ve organ transplant hücreleri gibi organizmaya zararlı ve yabancı hücelere doğrudan saldırırlar. Bu hücreler hedef hücelere, yüzeylerindeki spesifik reseptör moleküller aracılığı ile bağlanırlar ve onların membranlarının bütünlüğünü bozup hücreyi lizise uğratarak öldürürler. Sitotoksik T lenfositlerinde immünglobulin için Fc reseptörü bulunmadığı için antikor-bağımlı hücrel sitotoksiste göstermezler (34).

Regülatör (supressör) T lenfositler, sitotoksik T hücre ve Th hücre etkinliğini baskılayarak immün reaksiyonların aşırıya kaçmasına izin vermezler. Bu hücrelerin IL-4, IL-10, TGF- $\beta$  sentezleyerek IL-2 sentezleyen T hücrelerini baskıladıkları bilinmektedir.

İmmün sistemdeki denge için CD4/CD8 oranı önem taşır; normalde bu oran 1,7-2 civarındadır. İmmün yanıtın düzenli bir şekilde işleyebilmesi için bu oranın dengede olması gerekir (34).

## **Doğal Öldürücü (Naturel killer; NK) Hücreler**

Dolaşımdaki lenfositlerin %10-15'ini NK hücreleri oluşturur. NK hücrelerinin fonksiyonel farklılaşması ve aktivasyonu için IFN- $\alpha$  ve  $\beta$ , IL-12, IL-15 ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinler gereklidir. NK hücrelerinin yüzey antijenleri farklıdır ve T hücre yüzey reseptörü ve yüzey immünglobülini taşımazlar. NK hücreleri, IL-2 veya CD16 ligandları ile stimüle edildiklerinde IFN $\gamma$ , TGF- $\beta$  ve GM-CSF sentezleyerek ve makrofajları aktive ederek bakteri enfeksiyonlarını kontrol ederler hatta bakterileri perforin yoluyla doğrudan lizise uğratabilirler.

NK hücrelerinin asıl görevi, virus ile enfekte konak hücrelerini ve tümör hücrelerini öldürmektir. Bu hücreler diğer lenfositlerden daha büyük oldukları ve sitoplazmalarında diğer lökositlerdekine benzeyen çok sayıda granül taşıdıkları için “büyük granüllü lenfosit” olarak da isimlendirilmişlerdir. Bunlar hedef hücelere doğrudan saldırarak sitolitik aktivite gösterirler. Fagositik aktiviteleri yoktur. IgG için Fc reseptörü taşıdıkları için antikora bağımlı hücrel sitotoksik bir etki de gösterebilirler. NK hücreleri doğal immüntenin major hücreleridir. NK hücre aktivitesi yaşla giderek etkinlik kazanır (34).

## **Diğer Hücreler**

**Nötrofiller:** Kandaki lökositlerin %50-65 kadarını oluştururlar. Sitoplazma içinde ince dağınık granüller içerirler. Kemik iliğinde miyeloblastların olgun nötrofillere gelişmeleri 10 gün alır. İlik havuzunda birkaç gün kaldıktan sonra dolaşıma geçerler. Nötrofiller güçlü fagositik aktiviteleri ile, inflamasyonun major hücreleridir. Sitoplazmalarındaki granüllerinde fagositik aktivite için gerekli enzimleri içerirler. Nötrofiller, IgG'nin Fc parçası ve C3b için spesifik yüzey reseptörleri ve kemotaktik reseptörler taşırlar. Nötrofillerin görevleri, mikroorganizmaların, yabancı maddelerin, doku yıkım artıklarının fagositozu, sekresyon ve akut faz cevabının oluşmasına katkı sağlamaktır. Nötrofillerin yapımı, başlıca IL-1, IL-3, GM-CSF, G-CSF gibi sitokinlerle indüklenir (34).

**Eozinofiller:** Kandaki lökositlerin %2-3 kadarını oluştururlar. Alerjik ve paraziter hastalıklarda sayıları artar. Bazofil ve eozinofil niteliklerine sahip hibrid prekürsörlerden farklılaşırlar. Bu hücrelerin gelişmesi başlıca, IL-3, IL-5 ve GM-CSF ile regüle edilir. IL-5 eozinofillerin selektif farklılaşmasından sorumlu olduğu gibi, bu hücrelerin kemik iliğinden kan dolaşımına geçmesini de stimüle eder. Eozinofiller sitoplazmaları iri granüllerle dolu, 12-17 µm çapında hücrelerdir. Mast hücreleri ve bazofillerden salınan kemotaktik faktörlerle enflamasyon alanına yönelirler. Zayıf fagositik aktiviteleri vardır. Etkin oksijen metabolitleri ve hedef hücre membranında oluşturdukları, ozmotik sitolize neden olabilen hasarlayıcı etkileriyle parazitlere karşı mücadelede yer alırlar (34).

**Bazofiller ve mast hücreleri:** Kan lökositlerinin %1'inden azını oluştururlar. 5-7 µm çapında hücrelerdir. Sitoplazmaları iri mor renkli granüller ile doludur. Zayıf fagositik aktivite gösterirler. Bazofil hücrelerde Charcot Leyden kristal proteini ve major bazik protein bulunur; bunlar mast hücrelerinde bulunmaz. Mast hücreleri 10-15 µm çapındadır ve bazofillerden daha büyüktürler. Granülleri de bazofillerden daha büyüktür. Bu granüllerde esas itibariyle yapısal olarak, heparin ve bazı inflamasyon mediyatörleri (histamin, kondroitin sülfat E, eozinofil ve nötrofil kemotaktik faktörler) ile indüklenebilir IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, LTB<sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, PGD<sub>2</sub>, PAF, TXA<sub>2</sub> bulunduğu gösterilmiştir. İnsan mast hücreleri kemik iliğinde, IL-3, CSF ve lokal doku faktörlerinin etkisi altında CD34+ pluripotent progenitör hücrelerden gelişirler. Prekürsör hücrelerde granüller bulunmaz. Mast hücrelerinin yapımı başlıca IL-3, IL-4 ve IL-10 tarafından indüklenir. Bu hücrelerin başlıca IL-4, IL-5, IL-13, TNF-α sentezledikleri bilinmektedir. Mast

hücrelerinin ömrü haftalar veya aylar kadar iken bazofillerin yaşam süresi ise günlerle sınırlıdır. Mast hücreleri ve bazofiller anafilaktik alerjinin major hücreleridir (34).

### 2.2.2 İmmünglobulinler

İmmünglobulinler, yabancı antijenlere karşı oluşan ve onlarla selektif olarak reaksiyona girebilen glikoprotein yapısında moleküllerdir. Esas itibariyle antikor özelliği taşırlar ve plazma hücreleri tarafından sentezlenirler. Total plazma proteinlerinin %20'sini immünglobulinler oluştururlar. İmmünglobulinlerin yaşa ve çeşitli faktörlere bağlı olarak, miktarları değişebilir. Antikor yapımını başlıca IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, IFN- $\gamma$  gibi çeşitli sitokinler indükler. IgM, IgG, IgE, IgA solunumsal sekresyonlardan izole edilmektedir. IgA üst solunum yolları ve iletici hava yollarında hakim iken, IgG bronş ağacının daha aşağı kısımlarında belirgindir (34).

**IgG:** Normal yetişkinde plazmadaki total immünglobulinlerin %75 kadarını IgG oluşturur. IgG1, G2, G3, G4 olmak üzere antijenik farklılık gösteren 4 alt sınıfı bulunmaktadır. Birçok hücre yüzeyinde IgG için Fc reseptörleri bulunmaktadır. Bu reseptörler aracılığı ile IgG molekülleri, immün komplekslerin ve partiküler antijenlerin opsonizasyonunu güçlendirir (34).

**IgA:** Monomer ve dimer formları vardır. Plazmada %90 monomer, vücut sekresyonlarında hemen tamamen dimer olarak bulunur. IgA'nın antijenik farklılık gösteren IgA1 ve IgA2 olmak üzere iki alt sınıfı bulunmaktadır. IgA esas itibariyle mukoza sekresyonlarının majör immünglobulinidir ve bu nedenle mukus ile örtülü dış yüzeylerde organizmanın lokal immün savunmasından sorumludur. Gözyaşı, tükürük, trakea, bronş, burun, vajen, barsak sekresyonları, safra ve sütte yüksek düzeyde IgA bulunur. Bu bölgelerde IgM ve IgG düzeyleri hayli düşüktür. Sekretuar IgA'nın asıl etkinliği, mikroorganizmaların mukoza hücrelerine bağlanmalarını ve onların dış yüzeylerde kolonize olmalarını veya epitel hücrelerini enfekte etmelerini önlemektir (34).

**IgM:** İmmün sistem tarafından antijene karşı sentezlenen ilk antikordur; doğal ve adaptif immün cevaplarda önemli rol oynar. Plazmadaki total immünglobulinlerin %8-10 kadarını oluşturur. İnsanda IgM'nin IgM1 ve IgM2 olmak üzere iki alt sınıfı bulunduğu gösterilmiştir. IgM, klasik yoldan kompleman aktivasyon yeteneği en fazla olan immünglobulin olup, tek molekül IgM bile, kompleman sistemini aktive etmeye yeterlidir.

Fagositozu da kolaylaştırır. Organizmanın herhangi bir antijen ile karşılaşması halinde, immün sistemin ilk sentezlediği ve serumda önce ortaya çıkan antikorlar IgM sınıfındadır. Aylar içinde kaybolarak yerlerini, uzun süre koruyucu etkinlik gösteren IgG sınıfı antikorlara bırakırlar (34).

**IgD:** Plazmada total immünglobulinlerin % 0.2-1'ini oluşturur. Isı ve proteolitik enzimlerle kolayca parçalanabilir. IgM ile birlikte B lenfosit yüzeylerinde yer alır. Fonksiyonları tam bilinmemekle birlikte, B hücrelerinin farklılaşmasında görev yaptıkları düşünülmektedir. Th2 sitokinlerinin (IL-4 ve IL-10) insan B hücrelerinde IgD yapımını artırıcı; Th1 sitokinlerinin (IFN- $\gamma$ ) ise azaltıcı yönde etki yaptıkları bilinmektedir.

**IgE:** Normalde plazmadaki immünglobulinlerin % 0.0004-0.001 kadarını IgE oluşturur. IgE sınıfı antikorlar mast hücrelerine ve bazofillere bağlanarak onları duyarlı hale getirirler. Reseptörleri Fc $\epsilon$ RI aracılığı ile fikse oldukları mast hücrelerinde alerjeni bağladıkları zaman akut aşırı duyarlılık reaksiyonlarının (anafilaksi) ortaya çıkmasına neden olurlar. Bazı hücrelerde IgE antikorları için reseptörler bulunduğu gösterilmiştir. Fc $\epsilon$ RI mast hücreleri ve bazofillerde; Fc $\epsilon$ RII, eozinofil, monosit, makrofaj, trombosit ve bazı T ve B hücrelerinde eksprese edilir. IgE, derideki mast hücrelerini ve kan bazofillerini, yüksek afiniteli Fc $\epsilon$ RI aracılığı ile aktive ederler. Ayrıca mast hücre mediatörleri veya IL-5, GM-CSF ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinler, IgE reseptörlerinin ekspresyonunu yukarı çekerler ve IgE bağımlı eozinofil sitotoksitesini artırır. IgE antikorları, helmintlere karşı oluşan, antikor bağımlı sellüler sitotoksik reaksiyonlara katılırlar; aktive makrofajlar, eozinofil ve trombositleri parazit membranına bağlayarak, parazitin tahribine yardımcı olurlar. IgE antikorları komplemanı aktive etmezler. IL-4, IgE yapımını belirgin olarak indükler. IgE sentezinin regülasyonunda IFN- $\alpha$ , IL-8, IL-9, IL-10, IL-13, TNF- $\alpha$  ve PGE<sub>2</sub> de etkilidirler. IFN- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , TGF- $\beta$ , IL-8, IL-12 in vitro IgE yapımını inhibe ederler (34).

### 2.2.3 Sitokinler

İmmün ve inflamatuvar olaylara katılan hücrelerin etkinliklerinin artırılması, uyarılmış lenfositler, monositler, makrofajlar ile diğer bazı hücrelerde sentezlenen ve salındıkları zaman, salındıkları hücre çevresindeki hücelere (parakrin) veya salındıkları hücreler üzerine (otokrin) etkili sitokin denilen glikoprotein yapısındaki maddenin aracılığı ile olur.



Sitokinler temelde immün sistemin gücünü ve karmaşık yapısını yansıtırlar. İmmün sistemin uyarana karşı oluşan cevabında, birçok farklı mediyatör molekülün sentez ve aktivasyonu söz konusudur. Bu mediyatörlerin büyük bir bölümünü de sitokinler oluşturmaktadır. Sitokinlerin, çeşitli hücrelerde sentezlenip immün cevapta, inflamasyonda, hematopoezde, sistemler ve hücreler arasındaki fizyolojik ilişkilerde ve temelde konağın zararlıya karşı savunmasında çok önemli görevler yaptıkları bilinmektedir. Bazı önemli sitokinler ve hücre kaynakları tablo 2.10'de belirtilmiştir (35).

**Tablo 2.10.** Bazı önemli sitokinler ve hücre kaynakları

Sitokin	Temel hücre kaynağı	Fonksiyonu
IL-1	Makrofaj	T ve B hücre proliferasyonu, diferansiyasyonu, proinflamatuvar aktivite
IL-2	Th1	T ve B hücre proliferasyonu, diferansiyasyonu
IL-3	Th2	Hematopoetik kök hücre proliferasyonu, diferansiyasyonu
IL-4	Th2	B hücre proliferasyonu, diferansiyasyonu, IgE oluşumunu desteklemek
IL-5	Th2	Eozinofil proliferasyonu, diferansiyasyonu
IL-6	Makrofaj, fibroblast, T hücreler	B hücre proliferasyonu, diferansiyasyonu, proinflamatuvar aktivite
IFN $\gamma$	Th1	Viral çoğalmanın önlenmesi Makrofaj aktivasyonu IgE oluşumunu inhibe etmek
GM-CSF	Th1-Th2, epitel, fibroblast	Hematopoetik kök hücre proliferasyonu, diferansiyasyonu Matür granülosit aktivasyonu

Sitokinler, bazı fizyolojik fonksiyonları dışında, immün cevabın başlamasını ve sürmesini regüle ederler. Sitokinler, patojenlere karşı dirençte aracılık edecek immün cevabın tipini ve efektör mekanizmaları da belirlerler. Antijenik uyarının sitokin yapımını tetiklemesi ile birlikte, doğal olarak spesifik sitokin reseptörlerinin ve sitokin

antagonistlerinin ekspresyonu da tetiklenir. Sitokinler normal veya orta şiddetteki immün ve inflamatuvar cevaplarda başlıca lokal etkilidirler. Bazı sitokinler ve bilinen özelliklerinden aşağıda bahsedilmektedir (34).

**IL-4:** Th2 hücreleri, timositler, mast hücreleri, eozinofiller, nötrofiller tarafından açığa çıkartılırlar. Başlıca biyolojik etkinlikleri;

- Th2 subgrup indüksiyonu
- Th1 subgrup indüksiyonu
- Aktive B hücre çoğalma faktörü (IgE ve IgG4) yapımının hızlanması
- Sitotoksik T hücre aktivasyonunun artması
- Mast hücrelerinin çoğalma faktörü
- MHC klas-II ekspresyonunun artması
- IL-1Ra ekspresyonunun indüksiyonu
- VCAM-1 indüksiyonu
- IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  ve nitrik oksit sentezi üzerine süpresif etki

**IL-10:** Başlıca hücre kaynakları; TR hücreleri, Th2 ve Th0 subset hücreleri, timositler, monosit, B hücreleri, langerhans hücreleri ve makrofajlardır. Birçok enfeksiyon sırasında IFN- $\gamma$  cevabına IL-10 yapımı da eşlik eder. Bu reaksiyon, tip 1 sitokin cevabı ile oluşabilecek doku hasarının azaltılmasını amaçlamaktadır. TGF- $\beta$  ile sinerjistik etki gösterir ve immün toleransın indüklenmesinde rol alır (34). Biyolojik etkinlikleri;

- Th1 subset proliferasyonunun süpresyonu
- IL-2 ve IFN- $\gamma$  sentezinin inhibisyonu
- IL-1, IL-6, IL-8, GM-CSF, G-CSF sentezinin inhibisyonu
- NK ve makrofaj aktivasyonunun inhibisyonu
- Reaktif nitrik oksit yapımının süpresyonu
- IL-1Ra ekspresyonunun indüksiyonu
- B hücre proliferasyonu diferansiyasyonunun indüksiyonu
- IgG1, G2, G3 ve IgA `ya yönelim

**IFN- $\gamma$ :** CD-8 T hücreler, Th1 subset ve NK hücreleri, NK hücreleri, gama-delta T hücreleri, B hücreleri, dendritik hücreler ve aktive makrofajlardan salınmaktadırlar. IFN- $\gamma$  birçok hücrenin intrasellüler patojenleri öldürme yeteneklerini artırır. IFN- $\gamma$  reseptörünün

genetik defekti, hücrelerin IFN- $\gamma$  ile aktivasyonuna engel olur, dolayısıyla makrofajlarda fonksiyonel yetersizlik meydana gelir (34). Biyolojik etkinlikleri;

- CD4+ T hücrelerinin Th1 fenotipine diferansiyasyonu
- Th1 ve NK hücre aktivitesinin şiddetlenmesi
- Th2 subgrup hücrelerinin inhibisyonu
- Çeşitli hücrelerde MHC klas I ve II antijenlerinin ve Fc reseptör ekspresyonunun indüksiyonu
- Makrofaj ve endotel hücrelerinin aktivasyonu
- CD8+ T hücre efektörlerinin oluşması
- B hücre proliferasyonu ve diferansiyasyonu
- Yüzey reseptörlerinin ekspresyonunda artış
- Kaşeksi
- Antiviral etkinlik

## 3.GEREÇ ve YÖNTEM

### 3.1. Olgu Seçimi

Çalışmamıza Başkent Üniversitesi Ankara Hastanesi'nde görev yapmakta olan, hastanemiz Göğüs Hastalıkları Kliniği bünyesindeki sigara bırakma polikliniğine başvuran gönüllü, bilinen sistemik hastalığı olmayan 46 kişi alındı. Olguların yaş aralığı 20-50 arasında idi.

Olgular sigara içme özelliklerine göre üç gruba ayrıldı. Sigara içen grubu en az 5 paket-yılı sigara içme öyküsü olan olgular oluşturdu. Sigarayı bırakan grubu sigarayı en az bir yıldır içmeyen olgular, sigara içmeyen kontrol grubunu ise sağlıklı hiç sigara içmemiş olgular oluşturdu. Sigara içme durumları hastanın beyanı ile sınıflandırıldı.

Kişilerin çalışma anında ve çalışmadan önceki bir ay içinde herhangi bir sisteme ait enfeksiyon geçirmemiş olmasına dikkat edildi. Kişisel ve ailesel atopi öyküsü olanlar çalışmaya alınmadı. Her üç gruptaki olguların hiçbirinde KOAH ve astım tanısı yoktu. Olguların fizik muayene bulguları normaldi. Aktif enfeksiyon olmadığını göstermek amacı ile tüm olgularda tam kan sayımı, C- reaktif protein (CRP) düzeyleri, akciğer grafileri değerlendirildi.

Çalışmaya alınan tüm olgular solunum fonksiyon testi ile değerlendirildi. Atopi değerlendirilmesi için cilt testi uygulandı. Tüm olgulardan indükte balgam örnekleri alındı.

Çalışma, Üniversitemiz Araştırma Kurulu'nun KA06/62 no'lu onayı sonrası, çalışmada kullanılan parametlerin kitlerinin alımı ile gerçekleştirildi. Üniversitemiz Etik Kurul onayı alındı ve çalışmaya alınan sağlıklı olguların tümüne bilgilendirilmiş onam formu imzalatıldı.

### 3.2. Biyokimyasal Parametrelerin Ölçümü

Tüm olgulardan kan parametrelerinin ölçümü için venöz kan örnekleri alındı. Çalışmaya alınan olgulardan, total eozinofil ve tam kan sayımı için K-EDTA'lı tüpe 3 ml, CRP için katıksız biyokimya tüpüne 5 ml periferik venöz kan örneği alındı. Total eozinofil ve lökosit sayımı cell-dyn-3700 ile, CRP düzeyi *türbidoimmünometrik yöntem* ile (Roche Hitachi Modüler Sistem) ölçüldü. Total eozinofil sayısı 0-500/ $\mu$ l ve CRP düzeyi 0-10 mg/L saptanması durumunda normal olarak değerlendirildi.

### 3.3. Ekspiryum Havasında Karbon Monoksit Ölçümü

Sigara içimini objektif olarak ekshale karbonmonoksit (CO) testi ile değerlendirdik. Olgulara test hakkında bilgi verildikten sonra ölçüm yapıldı. Tüm değerlendirmeler aynı kişi tarafından yapıldı. Ölçümler “*Portable MicroCO Meter*” (*Micro Medical, England*) cihazı ile yapıldı. Ekshale CO ölçümünde burun bir mandalla kapalı iken derin bir inspirasyon yapıp, 20 saniye nefes tutulduktan sonra bir ağızlık yolu ile cihaz içine yavaş ve tam bir ekspirasyon yapıldı. Ölçümler COHb (%) ve CO (ppm) değerlerine bakılarak değerlendirildi. Değerlere göre olgular heavy smoker, light smoker ve nonsmoker olarak yorumlandı.

**Tablo 3. 1.** Ekshale CO değerlerine göre sigara tüketiminin değerlendirilmesi

CO (ppm)	COHb (%)	Sigara tüketimi
0-5	0-0,9	Nonsmoker
6-10	1-1,7	Light smoker
11-72	1,8-12	Heavy moker
> 72	>12	CO zehirlenmesi şüphesi

### 3.4. Solunum Fonksiyon Testleri

Tüm olgularda FVC, FEV<sub>1</sub>, FEV<sub>1</sub>/FVC, FEF<sub>25-75</sub> parametreleri spirometri ile (*Sensormedics, Vmax Spectra 229 Bilthoven, The Netherlands*) değerlendirildi.

### 3.5. İndükte Balgam Analizi

#### 3.5.1. Gerekli Malzeme ve Gereçler

- Steril salin solüsyonları (%3, %4,5, %5)
- Ultrasonik nebulizatör (1ml/dk)
- Spirometre /Pefmetre
- Resüsitasyon için gerekli olan malzemeler ve ilaçlar
- Santrifüj- sitosantrifüj
- 48 µm kalınlığında naylon ağ
- Falcon tüpleri
- Ependorf tüpleri
- Otomatik pipetler ve pipet uçları

- Thoma lamı
- Lam
- 14- Dithiothreitol (DTT)

### 3.5.2. Balgam indüksiyonu

- Hastaya işlem ile ilgili bilgi verildi.
- Bronkodilatör öncesi FEV<sub>1</sub> ve PEF değerleri ölçüldü.
- Hastalara 200-400 µg salbutamol inhale ettirildi.
- 10 dk sonra bronkodilatör sonrası FEV<sub>1</sub> ve PEF değeri ölçüldü. Bronkodilatör sonrası FEV<sub>1</sub> > 1 L veya FEV<sub>1</sub> > %60 (beklenenin) olanlara işlem uygulandı.
- Sabit konsantrasyonda veya giderek artan konsantrasyonlarda salin solüsyonu ile indüksiyon işlemine başlandı (%3, %4,5, %5 NaCl ).
- İndüksiyon işlemi 7'şer dakikalık sürelerle toplam 3 kez uygulandı.
- Her indüksiyon süresinin sonunda FEV<sub>1</sub> ve PEF değeri ölçüldü. FEV<sub>1</sub> veya PEF değerinde %20 veya üzeri düşüş izlendiğinde işleme son verildi.
- Her indüksiyon sonrası hastalardan ağızlarını su ile çalkalamaları ve öksürerek balgam çıkarmaları istendi.

### 3.5.3. İndükte balgamın işlenmesi

İndükte balgam alındıktan hemen sonra incelemeye alındı. Tüm balgam tartıldı. Balgama eş hacimde sputalysin çalışma solüsyonu (% 0.1 DTT ) eklendi. Karışım 15 dk oda sıcaklığında vortekslendi. 48 µm kalınlığında naylon ağdan geçirilerek elde edilen filtrat tartıldı. Filtratın hücre canlılığı Trypan blue ile değerlendirildi ve Thoma lamında total hücre sayımı (TCC) yapıldı. TCC sayılan hücreler  $2 \times 2 \times 10^4$  şeklinde hesaplandı. Filtrat 790 µg, 10 dk, 4°C'de santrifüj edildi. Elde edilen süpernatant ayrılarak immünglobulin ve sitokin düzeyleri incelendi. Kalan hücre sedimentinde lenfosit altgrupları değerlendirildi ve 22 µg hızında 6 dk sitosantrifüj ile sitospin hazırlandı. Sitospin Giemsa boyası ile boyandı ve hücre dağılımı değerlendirildi.

### 3.5.4. İndükte Balgam Sitokin Düzeyi Ölçümü

İndükte balgam süpernatant kısmında IL-4, IL-10 ve IFN-γ düzeyleri uygun ELISA kitleri (*Bio Source Europe, Belgium*) ile analiz edildi. Algılanabilir en düşük doz limitleri sırasıyla IL-4 < 2.0 pg/mL, IL-10 < 1 pg/mL, IFN-γ < 4 pg/mL idi. İntra ve inter assay

değişkenlikleri (%CV) IL-4 için %2,9 ve %3,9, IL-10 için %2,9 ve %2,9, IFN- $\gamma$  için %5,2 ve %6,0 olarak alındı.

### 3.5.5. İndükte Balgam İmmünglobulin Düzeyi Değerlendirilmesi

Kantitatif IgA ve kantitatif IgG değerlendirilmesi *Roche* otomatik analizöründe *immünoturbidimetrik analiz* ile yapıldı. IgA için referans aralığı 0.7-4 g/L, IgG için 7-16 g/L kabul edildi. Total IgE analizi *Abbott ARCHITECT* sistemi kullanılarak yapıldı. Referans aralığı total IgE <100 IU/mL olarak kabul edildi.

### 3.5.6. İndükte Balgam Lenfosit Alt Grup Analizi

Lenfosit alt grup analizi indükte balgamdan elde edilen sediment kısmında değerlendirildi. CD3, CD4, CD8, CD25 oranları incelendi.

- 1) Elde edilen sediment petri kaplarına alındı.
- 2) 37 °C'de 15 dakika bekletildi.
- 3) Dikkatli bir şekilde üzerindeki sıvı pipetle falcon tüpüne alındı.
- 4) Hücreler 2 kere PBS (Ph: 7.4) tamponuyla yıkandı.
- 5) Tüplere 100 $\lambda$  PBS ve 5 $\lambda$  monoklonal antikor eklendi.
- 6) Hazırlanan hücre süspansiyonundan tüm tüplere 100 $\lambda$  eklendi.
- 7) Tüpler karıştırılıp karanlıkta 30 dakika oda ısısında inkübe edildi.
- 8) 3 cc PBS ile tüm tüpler 2 kere yıkandı.
- 9) Hücre pelletinin üzerine 1cc PBS konularak karıştırıldı.
- 10) Hücreler flowsitometri cihazından geçirilerek sonuçlar elde edildi.

### 3.6. Alerji Deri Testinin Uygulanması

Tüm olgularda standart alerjenler kullanılarak ön kol iç yüzüne, 13 adet genel aeroallerjen (*D.pteronysinus*, *kedi*, *köpek*, *A.vulgaris*, *P.pratense*, *C.avellana*, *B.alba*, *C. Herbaum*, *lateks*, *hamamböceği*, *Parietaria officinalis*, *Olea europea*, *Alternaria alterna*) içeren test paneli yapıldı (*Stallergenes, France*). Hastaların işlem öncesi en az bir hafta içinde deri testi cevabını etkileyebilecek antihistaminik veya benzeri ilaçlar almamalarına dikkat edildi. Alerjen ekstreleri hastanın koluna damlatıldıktan sonra epidermis ince bir lanset yardımıyla delinerek 15 dakika beklendi. Alerjene verilen deri cevabı, 20 dakika sonra oluşan ödem reaksiyonunun çapı ölçülerek belirlendi. Negatif kontrol cevabından 3mm ve daha fazla olan endürasyon pozitif alerjik duyarlılık olarak kabul edildi.

### 3.7. İstatistiksel yöntem

Çalışmamızda veri setinin analizinde SPSS 13.0 istatistik paket programı kullanıldı. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uyumu Shapiro-Wilk testi ile analiz edildi. Grup varyanslarının homojenliği Levene testi ile değerlendirildi. Normal dağılım gösteren ve grup varyanslarının homojen olduğu parametrelerde iki grup ortalamasının karşılaştırılmasında Student's t testi kullanıldı, ikiden fazla grup ortalamasının karşılaştırılmasında ise tek yönlü varyans analizi (ANOVA) yöntemi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen ve heterojen varyanslı parametrelerde iki grup ortalamasının karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi, ikiden fazla grup ortalamasının karşılaştırılmasında ise Kruskal-Wallis testi ve çoklu karşılaştırma yöntemlerinden Dunn testi kullanıldı. Spearman-rho korelasyon katsayısı ile değişkenler arasındaki ilişkilere bakıldı. Sonuçlar,  $\pm$  standart sapma ve ortanca değer olarak ifade edildi. Kategorik verilerin değerlendirilmesinde Pearson ki-kare testi kullanıldı. Sonuçlar n (%) olarak ifade edildi.  $P < 0,05$  düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



## 4. BULGULAR

Çalışmamıza 27'si erkek (%58,7) toplam 46 olgu alındı. Olguların yaş ortalaması  $31,78 \pm 6,21$  yıl olarak saptandı. Sigara içmeyen 17 olgu (%37), sigarayı bırakan 15 olgu (%32,6), halen sigara içmekte olan 14 olgu (%30,4) çalışmaya katıldı. Çalışmaya dahil edilen olguların 29'unda (%63) sigara içme öyküsü mevcuttu. Bu olgularda ortalama sigara içme süresi  $13,34 \pm 5,36$  paket-yılı olarak hesaplandı.

Çalışmaya alınan tüm olgulara solunum fonksiyon testi uygulandı. Olguların tümünde solunum fonksiyon testleri normal sınırlar içerisindeydi. Olguların FEV<sub>1</sub>/FVC değerleri ortalama  $84,13 \pm 7,49$  ve FEV<sub>1</sub>, FVC değerleri sırasıyla beklenenin  $105,06 \pm 11,54$ ,  $108,41 \pm 11,34$  olarak hesaplandı.

Olguların tümünde aktif enfeksiyon değerlendirilmesi açısından kan lökosit sayımı ve C-reaktif protein (CRP) düzeyi incelendi. Olgularda kan lökosit sayımı ortalama  $6520,00 \pm 1105,66$  /mm<sup>3</sup> ve CRP düzeyi  $1,70 \pm 2,13$  mg/L olarak hesaplandı. Kan lökosit sayımı ve CRP düzeyleri normal olarak değerlendirildi.

Atopi değerlendirilmesi deri prick testi (DPT) ile yapıldı. Olguların tamamında DPT negatif olarak saptandı. Serumda total eozinofil seviyeleri incelendiğinde, olguların ortalama serum total eozinofil sayısı  $150,00 \pm 103,27$  / $\mu$ L olarak hesaplandı.

**Tablo 4. 1.** Olguların genel özellikleri

Cinsiyet	19K, 27E
Yaş (yıl)	$31,78 \pm 6,21$
Sigara içen olgu (%)	29, (%63)
Sigara içme süresi (paket-yıl)	$13,34 \pm 5,36$
CRP (mg/L)	$1,70 \pm 2,13$
Lökosit (/mm <sup>3</sup> )	$6520,00 \pm 1105,66$
FEV <sub>1</sub> /FVC (%)	$84,13 \pm 7,49$
FEV <sub>1</sub> (%) beklenenin	$105,06 \pm 11,54$
FVC (%) beklenenin	$108,41 \pm 11,34$
Total eozinofil sayısı (/ $\mu$ L)	$150,00 \pm 103,27$

Çalışmaya katılan 19 (%41,3) kadın olgunun ortalama yaşı 32,15±8,24 yıl, erkeklerin (n=27) ortalama yaşı 31,51±4,42 yıl olarak hesaplandı. İki cinsiyette yaş açısından anlamlı fark izlenmedi (p>0,05).

Çalışmamızdaki erkek olgularda sigara içme süresi ortalama 13,94±5,10 paket-yıl, kadınlarda 12,50±5,82 paket-yıl olarak hesaplandı. Erkek olgularda sigara içme süresi kadınlara göre daha uzun saptandı. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (p>0,05).

Solunum fonksiyon testi değerleri incelendiğinde kadın olgularda ortalama FEV<sub>1</sub>/FVC %84,74±6,93, FEV<sub>1</sub> ve FVC sırasıyla beklenenin %105,47±11,92 ve %108,36±1,69 olarak hesaplandı. Erkek olgularda bu değerler sırasıyla %83,70±7,96, %104,77±11,48, %108,44±11,31 olarak hesaplandı. Solunum fonksiyon testi değerlendirilmesinde iki cinsiyet arasında fark saptanmadı (p>0,05).

İndükte balgam hücre değerlendirmesi sonucu hücre dağılımı açısından her iki cinsiyet arasında anlamlı fark saptanmadı (p>0,05).

İndükte balgam incelemesi sonrası elde edilen indükte balgam IgG, IgA, IgE düzeyleri ve sitokin düzeyleri arasında cinsiyetler arası farklılık izlenmedi (p>0,05).

İndükte balgam lenfosit alt grupları sonuçları incelendiğinde CD3 oranı kadınlarda ortalama % 3,29±4,44, erkeklerde % 5,41±6,58; CD4 oranı kadınlarda %3,62±9,34, erkeklerde % 6,95±11,80; CD25 oranı kadınlarda %2,22±2,73, erkeklerde %4,55±7,75 olarak hesaplandı. Her üç incelemede cinsiyetler arası fark izlenmedi (p>0,05). CD8 oranı ise kadın ve erkeklerde sırasıyla % 2,14±3,50 ve % 7,67±12,17 olarak hesaplandı. CD8 oranı erkeklerde anlamlı düzeyde kadınlardan fazla saptandı (p<0,05).

**Tablo 4. 2.** Cinsiyetlere göre lenfosit alt gruplarının dağılımı

	<b>Kadın*</b>	<b>Erkek*</b>	<b>P değeri</b>
<b>CD3 (%)</b>	3,29±4,44 1,20	5,41±6,58 2,49	P>0,05
<b>CD4 (%)</b>	3,62±9,34 0,48	6,95±11,80 1,95	P>0,05
<b>CD8 (%)</b>	2,14±3,50 0,31	7,67±12,17 3,20	<b>P&lt;0,05</b>
<b>CD25( %)</b>	2,22±2,73 0,86	4,55±7,75 0,77	P>0,05

\* Değerler ortalama ±standart sapma ve ortanca değer kullanılarak belirtilmiştir.

Sigara içme durumlarına göre olgular değerlendirildiğinde; sigarayı aktif olarak içmekte olan 14 kişi (%30,4), sigarayı bırakmış 15 kişi (%32,6), hiç sigara içmemiş 17 kişi (%37) saptandı.

Aktif sigara içicilerinin 8'i (%57,1), sigarayı bırakmış olanların 9'u (%60), hiç sigara içmemişlerin 10'u (%58,8) erkekti.

**Tablo 4. 3.** Sigara içme durumlarına göre olgular

	<b>Aktif sigara içenler</b>	<b>Sigarayı bırakmış</b>	<b>Sigara hiç içmemiş</b>
<b>Kadın n (%)</b>	6 (42,9)	6 (40)	7 (41,2)
<b>Erkek n (%)</b>	8 (57,1)	9 (60)	10 (58,8)
<b>Toplam</b>	14 (100)	15(100)	17 (100)

Sigarayı aktif içmekte olan olguların yaş ortalaması 29,78±3,28 yıl, sigarayı bırakmış grubun yaş ortalaması 36,86±8,07 yıl, hiç sigara içmemiş gruptaki olguların yaş ortalaması 28,94±2,53 yıl olarak hesaplandı. Sigarayı bırakmış olguların yaş ortalaması diğer gruplara göre anlamlı düzeyde yüksek saptandı (p<0,01).

Sigara içme sürelerine göre değerlendirildiğinde aktif sigara içenlerin ortalama sigara içme süresi 12,42±3,28 paket-yıl, sigarayı bırakmış grupta 14,20±6,74 paket-yıl olarak saptandı. İki grupta sigara içme süreleri açısından fark yoktu (p>0,05). Sigarayı bırakmış grupta ortalama sigara bırakma süresi 1,60±0,47 yıl olarak saptandı.

Solunum fonksiyon testi değerleri incelendiğinde aktif sigara içen olgularda ortalama FEV<sub>1</sub>/FVC %81,57±7,14; FEV<sub>1</sub> beklenenin %104,64±11,51; FVC beklenenin %108,35±12,30, sigarayı bırakmış grupta değerler sırasıyla %86,94±8,90; %104,80±14,58; %108,13±13,44, sigara hiç içmemiş olgularda %83,76±5,80; %105,64±8,95; %108,70±8,97 olarak hesaplandı. Gruplar arasında istatistiksel fark izlenmedi (p>0,05). Aktif sigara içen grupta sigara içme süresi ile FEV<sub>1</sub> ve FEF<sub>25-75</sub> arasında negatif ilişki saptandı (r=-0,052, r=-0,203). Ancak ilişki istatistiksel olarak anlamlı değildi.

**Tablo 4. 4.** Solunum fonksiyon testi sonuçları

	<b>Aktif sigara içenler*</b>	<b>Sigarayı bırakmış*</b>	<b>Sigara hiç içmemiş*</b>	<b>P değeri</b>
<b>FEV<sub>1</sub>/FVC (%)</b>	81,57±7,14 81,00	86,94±8,90 85,00	83,76±5,80 82,00	p>0,05
<b>FEV<sub>1</sub> (%)</b>	104,64±11,51 87,00	104,80±14,58 106,00	105,64±8,95 104,00	p>0,05
<b>FVC (%)</b>	108,35±12,30 109,00	108,13±13,44 106,00	108,70±8,97 108,00	p>0,05
<b>FEF<sub>25-75</sub> (%)</b>	93,21±21,34 97,50	91,86±27,24 83,00	92,23±15,51 89,00	p>0,05

\* Değerler ortalama ±standart sapma ve ortanca değer kullanılarak belirtilmiştir.

Olgulara uygulanan ekshale CO testi sonucunda, aktif sigara içenlerde ekshale COHb yüzdeleri ve COppm ortalamaları sırasıyla %1,44±1,08 ve 9,35±7,07; sigarayı bırakmış olgularda sırasıyla %0,60 ± 0,23 ve 4,04±1,18; hiç sigara içmeyenlerde %0,58 ± 0,21 ve 3,46±1,51 olarak ölçüldü. Aktif sigara içicilerinde COppm ortalamaları ve COHb düzeyleri hem sigarayı bırakan olgulardan hem de sigara hiç içmemiş olgulardan anlamlı düzeyde yüksek saptandı (p<0,001, p<0,001). Yine bu olgularda sigara içme süresi ile COppm ve COHb arasında pozitif bir ilişki saptandı. COppm ortalaması ve COHb düzeyleri, sigarayı bırakmış olgularda da hiç içmemiş olgulara göre yüksek hesaplandı (p<0,001, p<0,01).

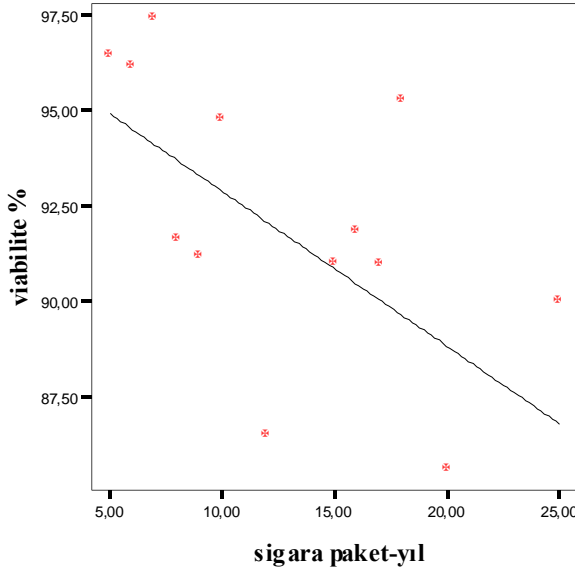
**Şekil 4.1.** Olgularda COppm düzeyleri**Şekil 4.2.** Olgularda COHb düzeyleri

Deri prick testi tüm gruplarda negatif olarak saptandı. Kan lökosit sayımı ve CRP düzeyleri arasında aktif sigara içen, sigarayı bırakmış ve hiç sigara içmemiş olgularda istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi (p>0,05).

Serumda total eozinofil seviyeleri incelendiğinde aktif sigara içen olgularda ortalama total eozinofil sayısı 189,28±117,96 / $\mu$ L iken, sigarayı bırakmış ve hiç sigara içmeyen olgularda sırasıyla 146,66±106,01 / $\mu$ L ve 120,58±81,12 / $\mu$ L olarak hesaplandı.

Aktif sigara içenlerde serum total eozinofil sayısı diğer iki gruptan yüksek saptanmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ).

Sigara içme durumlarına göre indükte balgam canlılığı değerlendirildiğinde olgular arasında anlamlı fark izlenmedi ( $p>0,05$ ). Tüm olgular incelendiğinde ortalama viabilite  $\%91,15\pm5,07$  olarak saptandı. Ancak aktif sigara içen olgularda sigara içme süresi ile balgam hücre canlılığı arasında negatif bir ilişki izlendi ( $p<0,05$ ).



**Şekil 4.3.** Sigara içme süresi ile viabilite ilişkisi

Elde edilen indükte balgam örneğinin total hücre sayısı açısından gruplar incelendiğinde aktif sigara içen olgularda total hücre sayısı  $3,86\times10^6 \pm 3,21\times10^6$  /ml olarak hesaplandı. Sigarayı bırakmış olgularda ve hiç sigara içmeyenlerde ise total hücre sayıları sırasıyla ortalama  $3,75\times10^6 \pm 1,98\times10^6$  /ml ve  $2,58\times10^6 \pm 1,35\times10^6$  /ml olarak hesaplandı. Sigara içen olgularda total hücre sayısı sigarayı bırakmış ve hiç içmemiş olgulardan yüksek saptandı, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ).

Aktif sigara içen olgularda balgam hücre dağılımı değerlendirildiğinde ortalama alveolar makrofaj oranı  $\%69,07\pm10,62$  hesaplandı. Sigarayı bırakmış olgularda bu oran ortalama  $\%73,88\pm7,79$  iken, hiç sigara içmemiş olgularda  $\%77,35\pm13,57$  idi. Alveolar makrofaj oranı aktif sigara içenlerde diğer olgulara göre düşük saptanmasına rağmen bu fark anlamlı değildi ( $p>0,05$ ). İndükte balgam nötrofil oranları aktif sigara içen, sigarayı bırakmış ve hiç sigara içmemiş olgularda sırasıyla  $\%26,18\pm11,73$ ;  $\%20,84\pm9,99$ ;  $\%17,17\pm12,04$  olarak hesaplandı. Hiç sigara içmeyenlerde nötrofil oranı düşük saptandı.

Gruplar arasındaki fark anlamlı değildi ( $p>0,05$ ). İndükte balgam eozinofil oranı aktif sigara içenlerde ortalama  $0,42\pm 1,06$ ; sigarayı bırakmış olgularda  $0,66\pm 0,44$ ; hiç sigara içmemişlerde  $0,98\pm 1,40$  idi. Aktif sigara içenlerde indükte balgam ortalama eozinofil oranı diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü ( $p<0,001$ ). Olguların indükte balgam lenfosit oranları değerlendirildiğinde aktif sigara içenlerde ortalama  $3,52\pm 2,15$ ; sigarayı bırakmış olgularda ve hiç sigara içmemiş olgularda indükte balgam lenfosit oranları sırasıyla  $3,86\pm 3,72$  ve  $4,09\pm 4,09$  olarak hesaplandı. Aktif sigara içen olgularda saptanan düşük indükte balgam lenfosit oranı istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ).

**Tablo 4.5.** İndükte balgam hücre dağılımı

İndükte balgam	Aktif sigara içenler*	Sigarayı bırakmış*	Sigara hiç içmemiş*	p değeri
<b>Viabilite %</b>	89,93±6,08 91,45	93,00±3,97 93,75	90,52±4,85 90,70	p>0,05
<b>Total hücre x10<sup>6</sup></b>	3,86±3,21 2,82	3,75±1,98 3,20	2,58±1,35 2,40	p>0,05
<b>Makrofaj %</b>	69,07±10,62 71,00	73,88±7,79 71,24	77,35±13,57 80,70	p>0,05
<b>Nötrofil %</b>	26,18±11,73 20,70	20,84±9,99 25,00	17,17±12,04 16,00	p>0,05
<b>Eozinofil %</b>	0,42±1,06 0,00	0,66±0,44 0,61	0,98±1,40 0,30	<b>p&lt;0,05</b>
<b>Lenfosit %</b>	3,52±2,15 3,08	3,86±3,72 3,05	4,09±4,09 2,25	p>0,05

\* Değerler ortalama ±standart sapma ve ortanca değer kullanılarak belirtilmiştir.

Elde edilen indükte balgamın süpernatant kısmında incelenen immünglobülin düzeyleri değerlendirildiğinde IgG düzeyi aktif sigara içen grupta ortalama  $1,17\pm 3,58$  g/L; sigarayı bırakmış olan grupta  $0,40\pm 0,45$  g/L; hiç sigara içmemiş olgularda  $0,26\pm 0,17$  g/L hesaplandı. Gruplar arasında anlamlı farklılık izlenmedi ( $p>0,05$ ). İndükte balgamda IgA düzeyi aktif sigara içenlerde ortalama  $0,10\pm 0,11$  g/L; sigarayı bırakmış olgularda ve hiç sigara içmemişlerde sırasıyla  $0,21\pm 0,33$  g/L ve  $0,07\pm 0,05$  g/L olarak saptandı. Sigarayı bırakmış olgularda indükte balgam IgA düzeyi sigara içmemiş ve aktif sigara içen olgulara

göre yüksekti. Sigarayı bırakmış olgularda saptanan yüksek IgA düzeyi istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p<0,001$ ). İndükte balgam total IgE düzeyleri incelendiğinde aktif sigara içenlerde ortalama  $3,10\pm 3,71$  IU/ml; sigarayı bırakmış olgularda  $2,06\pm 3,76$  IU/ml; hiç sigara içmemişlerde  $4,04\pm 6,54$  IU/ml saptandı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi ( $p>0,05$ ).

**Tablo 4. 6.** İndükte balgam immünglobulin düzeyleri

İndükte balgam	Aktif sigara içenler*	Sigarayı bırakmış*	Sigara hiç içmemiş*	P değeri
<b>Kantitatif IgG (g/L)</b>	1,17±3,58 0,18	0,40±0,45 0,30	0,26±0,17 0,20	P>0,05
<b>Kantitatif IgA (g/L)</b>	0,10±0,11 0,08	0,21±0,33 0,12	0,07±0,05 0,07	<b>P&lt;0,001</b>
<b>Total IgE (IU/ml)</b>	3,10±3,71 1,50	2,06±3,76 0,00	4,04±6,54 1,00	P>0,05

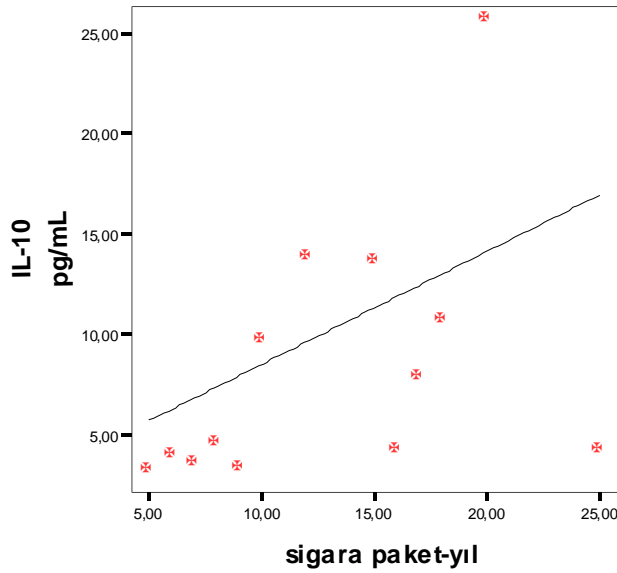
\* Değerler ortalama ±standart sapma ve ortanca değer kullanılarak belirtilmiştir.

İndükte balgam sitokin düzeyleri değerlendirilmesinde, aktif sigara içen olgularda IL-10 düzeyi ortalama  $9,50\pm 9,19$  pg/mL; sigarayı bırakmış olgularda  $11,23\pm 18,05$  pg/mL; hiç sigara içmemişlerde  $26,75\pm 44,64$  pg/mL hesaplandı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $p>0,05$ ). Aktif sigara içen olgularda sigara içme süresi arttıkça IL-10 düzeyinin de artmakta olduğu saptandı ( $p<0,05$ ). İndükte balgam IL-4 düzeyi gruplarda sırasıyla ortalama  $5,39\pm 0,73$  pg/mL,  $4,92\pm 0,43$  pg/mL,  $4,79\pm 0,44$  pg/mL saptandı. Aktif sigara içen grupta ortalama IL-4 düzeyi sigarayı bırakmış ve hiç sigara içmemiş olgulara göre anlamlı düzeyde yüksekti ( $p<0,001$ ). Aynı zamanda sigarayı bırakmış olgularda, ortalama indükte balgam IL-4 düzeyi sigara içmeyen olgulardan anlamlı olarak yüksek saptandı ( $p<0,01$ ). İndükte balgam IFN- $\gamma$  düzeyi aktif sigara içen olgularda ortalama  $24,04\pm 29,95$  pg/mL, sigarayı bırakmış olgularda  $15,93\pm 6,13$  pg/mL, hiç sigara içmemişlerde  $14,81\pm 9,13$  pg/mL hesaplandı. Olgular arasında IFN- $\gamma$  düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $p>0,05$ ). Sigara içme süresi ile sigara içen olgularda IFN- $\gamma$  düzeyleri arasında negatif ilişki saptandı ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $r=- 0,074$ ,  $p>0,05$ ).

**Tablo 4. 7.** İndükte balgam sitokin düzeyleri

İndükte balgam	Aktif sigara içenler*	Sigarayı bırakmış*	Sigara hiç içmemiş*	P değeri
<b>IL-10 (pg/mL)</b>	9,50±9,19 4,92	11,23±18,05 4,19	26,75±44,64 4,20	P>0,05
<b>IL-4 (pg/mL)</b>	5,39±0,73 5,39	4,92±0,43 4,86	4,79±0,44 4,71	<b>P&lt;0,001</b>
<b>IFN-γ (pg/mL)</b>	24,04±29,95 11,85	15,93±6,13 18,00	14,81±9,13 13,60	P>0,05

\* Değerler ortalama ±standart sapma ve ortanca değer kullanılarak belirtilmiştir.



**Şekil 4. 4.** Sigara içme süresi ile IL-10 düzeyi ilişkisi

Olgularda indükte balgam lenfosit altgrupları değerlendirmesinde CD3, CD4, CD8, CD25 oranları incelendi. Aktif sigara içen grupta ortalama CD3 %3,98±3,32; CD4 %9,96±14,82; CD8 %9,78±15,06; CD25 %2,37±2,83 hesaplandı. Sigarayı bırakmış olgularda CD3 %5,68±6,89; CD4 %3,93±10,31; CD8 %4,19±7,83; CD25 %3,69±6,67 olarak saptanırken, hiç sigara içmemiş olgularda değerler sırasıyla %3,97±6,59; %3,42±6,13; %2,82±3,58; %4,50±7,89 saptandı. Aktif sigara içen olgularda CD4 ve CD8 oranları sigarayı bırakmış ve hiç sigara içmemiş olgulardan yüksek saptandı. Bu fark



istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p>0,05$ ). Gruplar arasında CD3 ve CD25 oranları arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $p>0,05$ ).

**Tablo 4. 8.** İndükte balgam lenfosit alt grupları değerlendirilmesi

İndükte balgam	Aktif sigara içenler*	Sigarayı bırakmış*	Sigara hiç içmemiş*	P değeri
CD3 (%)	3,98±3,32 2,83	5,68±6,89 2,42	3,97±6,59 0,98	P>0,05
CD4 (%)	9,96±14,82 3,37	3,93±10,31 0,63	3,42±6,13 0,60	P>0,05
CD8 (%)	9,78±15,06 3,36	4,19±7,83 0,16	2,82±3,58 1,41	P>0,05
CD25 (%)	2,37±2,83 1,02	3,69±6,67 0,52	4,50±7,89 0,74	P>0,05

\* Değerler ortalama ±standart sapma ve ortanca değer kullanılarak belirtilmiştir.

## 5. TARTIŞMA

Kronik sigara dumanı inhalasyonu doğal ve kazanılmış immün yanıtları içeren birçok immünolojik fonksiyonu değiştirmektedir (36). Daha önce yapılan birçok çalışmada sigaranın immün sistem üzerine etkileri konusunda değişik sonuçlara varılmıştır. T hücre aracılı immün yanıtlarda artma ve azalmalar olduğunu işaret eden çelişkili sonuçlar elde edilmiştir (37). Bu çelişki bize de bir araştırma yapmak gereksinimini hissettirdi. Sigara içenlerde ve sigarayı bırakanlarda hiç sigara kullanmamış sağlıklı kişilere göre

indüklenmiş balgamda B ve T lenfositlerin etkilenme düzeylerini saptamak ve Th1-Th2 dengesi üzerine regülatör sitokinlerden IL-10'un etkisini araştırmak amacıyla çalışmamızı gerçekleştirdik.

Sağlık üzerine olumsuz etkilerinin çoğunun sigaranın immün sistem üzerine olan yan etkileri nedeni ile oluştuğu düşünölmektedir. Sigara içiminin çeşitli enfeksiyonlara yatkınlığı artırmasının hümorale ve hücresele immün yanıtlardaki değişiklikler sonucu olduğu düşünölse de, çalışmalarda bu değişikliklerin derecesi çeşitlilik göstermektedir.

Akciğerler çevresel patojenler ve antijenlere maruziyette savunma sistemini oluştırmada en önemli yollardan biridir. Nonspesifik ve spesifik savunma mekanizmaları pek çok yabancı maddenin akciğerlerden uzaklaştırılması için geliştirilmiştir. Alveoler makrofajlar (AM) ve diğer monositler akciğerlerde doğal immünitening en önemli elemanlarıdır (36). Sigara içimi ile AM sayısı artış göstermektedir. Sigara içimi ile ilişkili önemli hastalıklardan biri olan kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) patogenezinde AM'lerin rolü büyüktür. AM'lerden salgılanan birçok enzim ve elastazlar konnektif doku ve parankim hasarına neden olmaktadır (38,39). Ayrıca birçok çalışmada sigara içenlerde AM'lerin fonksiyonel olarak zayıfladığı ve düşük düzeyde proinflamatuvar sitokin salgıladığı gösterilmiştir (40). Bu sitokinler patojenlere erken yanıtta ve lokal savunma mekanizmalarının artırılmasında önemlidir (41).

Kazanılmış immünitede T ve B hücrelerinin de önemli görevleri bulunmaktadır. Sigara içenlerde, sigara içiminin kanıtlanmış en önemli etkisi periferik kanda lökosit sayısı artışı olmuştur (38,42). Ayrıca birçok araştırma göstermiştir ki uzun dönem sigara içimi sonucu serum immünglobulin düzeyleri azalmaktadır (43).

Sigaranın immün sisteme etkileri periferik kanda, bronkoalveoler lavajda (BAL), bronş biyopsilerinde ve indükte balgam örneklerinde araştırılmıştır.

Son yıllarda sigara içenlerde havayolu inflamasyonunun değerlendirilmesinde indükte balgam lokal inflamasyonu yansıtmaması nedeniyle daha fazla kullanılır hale gelmiştir (44). Bizim alışmamızda da sigara içen sağlıklı erişkinlerde indükte balgam örneklerinde hücre dağılımı, lenfosit alt grupları, sitokin düzeyleri ve immünglobulin düzeyleri incelenerek sigaranın immün sistem üzerine etkilerinin araştırılması hedeflenmiştir. Çalışmamızda sigarayı bırakan ve hiç içmemiş sağlıklı grupların indükte balgam örnekleri immün yanıtlar yönünden karşılaştırılmıştır.

Aktif sigara içen bireyler üzerinde yapılan çalışma sayısının fazlalığına rağmen, sigaranın bırakılmasının akciğerlerde inflamatuvar yanıtlardaki etkileri konusunda bilgi azdır (45). Çalışmalarda bazı sitokinler dışında aktif sigara içenler ile sigarayı bırakmışlar

arasında bronş biyopsileri ve balgam incelemelerinde havayolu inflamasyonunda fark izlenmemiştir (46, 47). KOAH'lı aktif sigara içen ve sigarayı bırakan olguların incelendiği bir çalışmada, bir yıllık sigara bırakma periyodundan sonra aktif sigara içen ve sigarayı bırakan olguların hücre profili ve makrofaj fenotiplerinde anlamlı farklılık izlenmemiştir. KOAH hastalarında sigara içiminin havayollarında kalıcı inflamatuvar değişiklikler oluşturduğu düşünülmüştür (45). Bizim olgularımızın tümü asemptomatik, bilinen sistemik hastalığı olmayan bireylerden oluşuyordu.

Asemptomatik sigara içicilerinde çalışmalar, balgam ve BAL incelemeleri sonucu sigaranın bırakılmasıyla havayolu inflamasyonunun azaldığını, makrofaj ve nötrofil sayılarında azalma olduğunu göstermiştir (48, 49). Bu sonuçlar da bize, inflamatuvar değişikliklerin KOAH oluşmayan sigara içicilerinde geri dönüşümlü olduğunu düşündürmektedir (50). Bizim olgularımızın tümü SFT parametreleri normal olan bireylerdi. Klasik kaynaklarda duyarlı içicilerde, KOAH oluşma süresi genellikle 20-25 paket -yılı sigara içimi olarak belirtilmektedir ve KOAH gelişimi 45 yaş üzerinde artış göstermektedir (51). Olgularımızın aktif sigara içen ve sigarayı en az bir yıldır bırakan iki grubunda da ortalama paket - yılı süresi sırasıyla  $12,42 \pm 3,28$  paket-yılı,  $14,20 \pm 6,74$  paket-yılı idi. Sonuçlarımızın gruplar arasında istatistiksel olarak farklı olmayışı bu durum ile açıklanabilir.

On sigara içmeyen, 13 sigara içen sağlıklı olguda havayolu inflamasyonu açısından yapılan bir çalışmada, sigara içen olguların BAL sıvılarında total hücre sayısı ve AM oranı sigara içmeyenlerden yüksek saptanmıştır (52). BAL ve akciğer dokusunda kronik sigara dumanı maruziyeti ile inflamatuvar hücre artışı arasında pozitif ilişki olduğu başka bir çalışmada belirtilmiştir (53). Sigara içenlerin akciğerlerinde nötrofil, makrofaj ve lenfositlerde artış bulunmaktadır (54). Bizim olgularımızda indükte balgam nötrofil, makrofaj ve lenfosit oranlarında anlamlı fark saptanmamıştır. Bu sonuçlarla, çalışmamızın sonuçları çelişmektedir. İndükte balgam örneği aldığımız olguların sağlıklı, asemptomatik bireyler arasından seçilmiş olması çalışmamızın özel bir yönüdür. Bir diğer sorun ise olgu sayımızın azlığıdır. İndükte balgam elde etme yöntemi, ERS 2002 uzlaşısı raporuna uygun olarak uygulanmaktadır (55, 56, 57). Kliniğimizde rutin tetkik amacıyla da kullandığımız bir tanı aracı olması nedeniyle çalışmamızda indükte balgam örneği almada teknik bir problem olmadığını düşünüyoruz.

Havayolu inflamasyonunun indükte balgam ile değerlendirildiği başka bir çalışmada, 15 KOAH'lı, 10 sağlıklı sigara içen ve 10 sağlıklı sigara içmeyen olgu değerlendirilmiştir. Sağlıklı sigara içenlerde hücre sayısı, nötrofil oranı ve balgam hücre

canlılığı sigara içmeyen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte, yüksek bulunmuştur (58). Bizim çalışmamızda benzer olarak total hücre sayısı ve nötrofil oranı sigara içenlerde, sigarayı bırakanlara ve sigara hiç içmemişlere göre daha yüksek saptandı, ancak fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Sonuçlarımızın bu çalışma ile benzerlik göstermesi nedeniyle bu konuda varolan literatür bilgilerinin halen net olmadığı, çelişkili olduğu ve detaylı araştırılması gerektiği kanısındayız.

Belda ve ark. tarafından yapılan çalışmada, 118 sağlıklı sigara içmeyen kişinin indükte balgam incelemesinde, makrofaj hakimiyeti saptanırken eozinofiller ve lenfositler çok düşük oranda bulunmuştur (59). Biz de benzer olarak sigara içmeyenlerde ve sigarayı bırakmış olgularda makrofaj oranlarını daha yüksek saptadık, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Makrofajlar sigara başta olmak üzere zararlı inhalasyon ajanları maruziyetinde ilk harekete geçen savunma hücreleridir. İmmün yanıtı yönlendirme görevini üstlenirler ve bu nedenle antijenle ilk karşılaşan, “antijen sunan hücreler=ASH” olarak tanınırlar. Makrofaj artışı sigara içiminin bir sonucu olarak bilinirken, çalışmamızda bunun aksine sigara içenlerde, sigara içmeyen ve bırakanlara göre farklı bulunmamıştır. Bu durum da yine uzun süreli sigara maruziyetinin olmayışı nedeniyle makrofaj fonksiyonlarının bozulmayışı ile ilişkilendirebiliriz. Olgularımızın ortalama yaşı  $31,78 \pm 6,21$  yıldır ve çalışmamız, genç popülasyonun akut sigara maruziyeti ile immün hücre profilinin kısa sürede olumsuz etkilenmediğini desteklemektedir.

Balzona ve arkadaşlarının asemptomatik sigara içenlerde ve sigara içmeyenlerde yaptığı çalışmada, sağlıklı sigara içmeyen kişilerde sigara içenlere göre hücre canlılığı ve nötrofil oranı daha yüksek bulunmuştur (58). KOAH’lı, sigara içen KOAH gelişmemiş ve hiç sigara içmeyen olguların değerlendirildiği bir çalışmada, 3 grup arasında hücre canlılığı ve eozinofil oranları arasında anlamlı fark saptanmamıştır (60). İndükte balgam hücre canlılığı değerlendirildiğinde biz de çalışmamızda benzer sonuçlar elde ettik.

BAL incelemesi yapılan diğer bir çalışmada ise, sigara içen kişilerde CD4+ T hücre ve CD8+ T hücre oranları yüksek bulunmuştur (61). İndükte balgam örnekleri ile yapılan çalışmada sonuçlar yine çelişkilidir, sigara içen KOAH gelişmemiş olgular ile hiç sigara içmeyen olguların indükte balgamlarında CD4+ T hücre ve CD8+ T hücre oranları arasında anlamlı fark izlenmemiştir (60). Biz de çalışmamızda, indükte balgam örneklerinde lenfosit alt gruplarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptamadık (Tablo 4.8). Çalışmamızda cinsiyetler arası değerlendirmede erkeklerde indükte balgam CD8 oranları, kadınlara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptandı ( $p<0,05$ ). Bu farklılığın erkek olgularda sigara içme süresinin kadınlardan uzun olması nedeniyle olabileceği

düşünüldü. Sigara içimi önceleri klasik erkek davranışı olarak bilinirken, günümüzde sigara özellikle kentsel bölgelerde kadın cinsiyetin de artarak tükettiği bir madde haline gelmiştir. Literatürde cinsiyet farkını sigaranın nasıl etkilediğine ilişkin bilgiler de yetersizdir. Olgu sayımızın azlığı sigaranın erkek-kadın arasındaki etkilenme düzeyini yorumlamamızı güçleştirmektedir. Ancak bulgularımız erkeklerde daha fazla immün etkilenmenin olduğuna işaret etmektedir. Daha fazla sayıda olgu ile bu karşılaştırma daha doyurucu bilgiler verebilir.

Çalışmamızda serum total eozinofil seviyeleri incelendiğinde aktif sigara içen olgularda ortalama total eozinofil sayısı  $189,28 \pm 117,96 /\mu\text{L}$  iken, sigarayı bırakmış ve hiç sigara içmeyen olgularda sırasıyla  $146,66 \pm 106,01 /\mu\text{L}$  ve  $120,58 \pm 81,12 /\mu\text{L}$  olarak hesaplandı. Aktif sigara içenlerde serum total eozinofil sayısı diğer iki gruptan yüksek saptanmasına rağmen bu fark, istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p > 0,05$ ). Sunyer ve arkadaşlarının astmatik ve non astmatik hastalarda yaptığı çalışmada, sigara içiminin nonastmatik bireylerde kan eozinofil sayısını artırdığı tespit edilmiştir (62). Eozinofil artışı sigara kullananlarda inflamatuvar hücrelerin artması ve buna bağlı olarak bu hücrelerden salınan sitokinlerin artışına bağlı olabilir. Hatta KOAH inflamasyonunda eozinofillerin rolü son yıllarda yoğun olarak tartışılmaktadır. Olgularımızda eozinofil düzeylerinin 3 grup arasında farklı olmayışı, yine diğer inflamatuvar hücre profili bulgularına paralel olarak, inflamasyonun yoğun olmayışı ile açıklanabilir.

KOAH'lı olguların indükte balgamında CD8+ T lenfosit alt gruplarının değerlendirildiği çalışmada, KOAH olgularında CD8+ IFN- $\gamma$  hücrelerinin anlamlı olarak azaldığı görülmüştür. Sigara içen KOAH oluşmayan grupta ise, sigara içmeyen sağlıklı kontrol grubu ile farklılık saptanmamıştır (63). Çalışmamızda indükte balgam IFN- $\gamma$  düzeyi aktif sigara içen olgularda ortalama  $24,04 \pm 29,95 \text{ pg/mL}$ , sigarayı bırakmış olgularda  $15,93 \pm 6,13 \text{ pg/mL}$ , hiç sigara içmemişlerde  $14,81 \pm 9,13 \text{ pg/mL}$  olarak hesaplandı. Sözü edilen bu çalışma ile benzer şekilde çalışmamızda, sağlıklı sigara içen olgular ile sigara içmeyen olgular arasında IFN- $\gamma$  düzeyleri yönünden anlamlı fark izlenmemiştir.

Sigara içenlerde immünolojik etkilerin araştırıldığı bir çalışmada, periferik kan örneklerinde lenfosit alt grupları, immünglobulin düzeyleri incelenmiştir. 10 yıldan daha kısa süre sigara içenler ile hiç sigara içmeyenlerde benzer CD3 oranları saptanmıştır (64). Bizim çalışmamızda da gruplar arasında CD3 oranlarında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar izlenmedi.

Başka bir çalışmada, sigara içen ve içmeyen hastaların ameliyat sonrası akciğer dokularında küçük havayollarında submukozal inflamatuvar hücre infiltrasyonu değerlendirilmiştir. Sigara içen ve içmeyen hastaların havayollarında nötrofiller, CD3, CD25, CD68 (makrofaj) oranları arasında anlamlı fark izlenmemiştir (65). Bizim çalışmamız farklı yoldan havayolu inflamasyonunun değerlendirildiği bir çalışma olmasına rağmen, sigara içme durumlarına göre olgular arasında CD3, CD25, makrofaj ve nötrofil oranlarında benzer şekilde anlamlı fark saptanmamıştır.

Çalışmalarda serum Ig düzeyleri üzerine sigaranın etkileri incelenmiş ve sigara kullanımının IgE dışında birçok Ig düzeyini azalttığı gösterilmiştir (64, 66). Sekretuar IgA mukozal yüzeylerde bulunan primer antikordur. Tükürük içerisinde sIgA düzeylerinin değerlendirildiği bir çalışmada sigara içenlerde içmeyenlere göre daha düşük düzeyde sIgA saptanmıştır (67). Biz çalışmamızda indükte balgam IgG ve IgE düzeyleri arasında anlamlı fark saptamazken, sigarayı bırakan olgularda anlamlı olarak IgA düzeylerinde artış saptadık. Bu artışın, sigaranın bırakılmasını takiben havayolu epitel hücrelerinin fonksiyonlarını yeniden kazanarak immün yanıtta etkili IgA sentezini artırmalarına bağlı olabileceğini düşündük.

IL-10, potent bir regülatör sitokindir ve havayollarını inhale edilen yabancı partiküllere karşı geliştirilen inflamatuvar yanıtı korur, inflamatuvar yanıtın derecesini azaltır (68). Th0, Th1 ve Th2 lenfositler tarafından üretilir. IL-10, Th1 ve Th2 hücre klonlarından sitokin sentezini inhibe edebilmektedir (69, 70, 71, 72). Bir antiinflamatuvar sitokin olan IL-10 düzeyleri sigara içenlerde yükselmektedir. Çalışmamızda, aktif sigara içen olgularda IL-10 düzeylerinde, diğer olgularda saptanan IL-10 düzeyleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $p>0,05$ ). Sigarayı bırakan olgularla içmeyenler arasında da fark yoktu. Ancak aktif sigara içen olgularda, sitokin düzeyleri analizinde sigara içme süresi arttıkça IL-10 düzeyinin de paralel olarak artış eğilimi gösterdiği saptandı ( $p<0,05$ ).

Sitokin düzeylerinin incelendiği başka bir çalışmada, sağlıklı sigara içenlerde sigara içmeyenlere göre ekshale havada IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-10 ve TNF- $\alpha$  düzeylerinde artış izlenmiştir (73).

Ratlarla yapılan bir çalışmada, sigara dumanına maruz kalan ratlarda BAL sıvısında IFN- $\gamma$  seviyelerinde azalma ve IL-4 seviyelerinde kontrol grubuna göre artış olduğu saptanmıştır (74). 19 sigara içen, 10 sigara içmeyen olgudan alınan kan örneklerinde sigara içenlerde içmeyenlere göre IL-4 düzeylerinde artış saptanırken, IFN- $\gamma$  düzeylerinde ise fark saptanmamıştır (75). Çalışmamızda, aktif sigara içen grupta ortalama IL-4 düzeyi,

sigarayı bırakmış ve hiç sigara içmemiş olgulara göre anlamlı düzeyde yüksekti ( $p<0,001$ ). Aynı zamanda sigarayı bırakmış olgularda, ortalama indükte balgam IL-4 düzeyi sigara içmeyen olgulardan anlamlı olarak yüksek saptandı ( $p<0,01$ ). IL-4 düzeylerinin sigarayı bırakanlarda sigara içmeyenlere yakın düzeylere düşmesi, sigarayı bırakmanın havayolu inflamasyonunu azalttığını düşündürmüştür (Tablo 4.7). IL-4, Th2 aracılı bir sitokindir ve eozinofil aktivasyonunu sağlar. Sigara içiminin çalışmalarda nötrofil göçünü daha yoğun uyardığı bilinmektedir, ancak son yayınlar bulgularımıza paralel olarak IL-4 artışını da desteklemektedir.

Sağlıklı sigara içen ve hiç sigara içmemiş olguların BAL sıvılarının flowsitometrik incelemelerinde, sigara içen olgularda Th1 sitokin (IFN- $\gamma$ ) salgılayan lenfositlerin oranında azalma saptanmıştır (76). Zhang çalışmasında, fare dalak hücrelerinin nikotin ile teması sonrası IL-2 ve IFN- $\gamma$  düzeylerinde azalmayı, IL-4 ve IL-10 üretiminde artışı göstermiştir (77). Başka bir çalışmada anestezi ile havayollarında IFN- $\gamma$  artışı gösteren ratların sigara dumanı maruziyeti sonrası IFN- $\gamma$  düzeylerinde azalma olduğu gösterilmiştir (78). Th1 immün yanıtın sigara içen kişilerin havayollarında azalması ile Th1 sitokinlerin koruyucu rol oynadığı enfeksiyonlara yatkınlık artabilir (76). Çalışmamızda sigara içen olgular ile sigarayı bırakmış ve hiç içmemiş olgular arasında IFN- $\gamma$  düzeylerinde fark saptanmadı. Çalışmalarda T hücre fenotipleri arasında çapraz düzenlemeler olduğu gösterilmiştir (79). IL-4, Th2 hücrelerin gelişimini artırırken, IFN- $\gamma$  bu hücrelerin gelişimini inhibe etmektedir. Ayrıca IFN- $\gamma$ , Th1 hücre gelişimi için gerekli iken IL-4 inhibitör olarak davranır. Eğer sigara içenlerde Th2 (IL-4) cevabı baskın hale gelirse, T hücre fenotipi üzerindeki etkileri ortaya çıkacaktır. Daha sonra polenler, akarlar gibi çevresel antijenlerin etkisiyle IL-4 üretimi ile Th2 baskınlığı artacak ve alerjik hastalıklara yatkınlık kolaylaşacaktır. Bu da sigara içiminin alerjik semptomları ve alerjik hastalıkları artırdığı konusundaki görüşün nedenidir (75). Çalışmamızda aktif sigara içen grupta ortalama IL-4 düzeyi sigarayı bırakmış ve hiç sigara içmemiş olgulara göre anlamlı düzeyde yüksek bulunmasına rağmen olgularımızda alerjik semptom ve bulgulara rastlanmamıştır. Alerji durumunu sadece cilt testleri ile değerlendirdiğimiz çalışmamızın, alerjiye işaret eden diğer bulguların araştırılmaması nedeniyle, hastalarımızın alerjik durumlarını net yansıtmadığı görüşündeyiz. Alerji uzmanı tarafından yapılacak diğer incelemeler bu durumun ortaya konmasına yardımcı olabilirdi. Bu da çalışmamızın diğer bir kısıtlayıcı yönü idi.

Son yıllarda CD4+ hücrelerden farklılaşan ve efektör immün yanıtı kontrol eden ve baskılayan yeni bir grup T hücresi tanımlanmıştır. Bu hücreler regülatör T hücreleridir (Treg). Bu grupta Th3, TR1, TR2, CD4+CD25+ hücreler yer almaktadır. CD25, Treg

hücreleri için uygun bir belirleyici olabilir (80). Treg hücrelerinden IL-10 ve TGF- $\beta$  gibi sitokinler salgılanır, bu sitokinler Th1 ve Th2 lenfosit fonksiyonlarını düzenlerler. Daha çok astımda inflamasyonun baskılanmasında Treg hücrelerinin üzerinde durulmaktadır (81). Treg hücreleri ile ilgili çalışmalar daha çok astımlı hastalar ile yapılmıştır (80,82). Antialerjik olan IL-10 ve TGF- $\beta$ , T hücre aktivasyonunu inhibe eder ve astımda havayolu inflamasyonunu önleyici görevler üstlenir.

Treg hücrelerden IL-10 ve TGF- $\beta$  yapımı ve salınımı çevreden gelen değişik immünolojik uyarılarla idare edilmektedir. Böylelikle Th1 ve Th2 lenfosit fonksiyonları kontrol altına alınmaktadır. Doğal ve kazanılmış immünolojik uyarıların yokluğu Treg lenfositlerin aktivitelerinde azalmaya neden olabilmektedir (81). Sigara da immünolojik bir uyarıcı olduğu için, çalışmamızda CD25+ Treg lenfositlerin aktivasyonu ile Th1 ve Th2 lenfosit fonksiyonlarını kontrol altında tutmak amacıyla, sigara içenlerde IL-10 düzeylerinde içme süresi ile giderek artış saptanmış olabileceği düşünüldü.

Sonuç olarak; çalışmamızda, sigara içenlerde ve sigarayı bırakanlarda hiç sigara kullanmamış sağlıklı kişilere göre indüklenmiş balgamda B ve T lenfositlerin etkilenme düzeylerini önemli parametrelerle saptamayı ve Th1-Th2 dengesi üzerine T regülatör sitokinlerden IL-10'un etkisini araştırmayı hedefledik. Olgularımızda indükte balgam nötrofil, makrofaj, lenfosit oranlarında ve lenfosit alt gruplarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Sigarayı bırakan olgularda indükte balgam IgA düzeyleri anlamlı olarak yüksek saptandı ( $p < 0,001$ ). Bu artış sigaranın bırakılması ile olgularda havayolu inflamasyonunun geri dönüşümlü olduğunu ve epitel hücrelerinin normal fonksiyonlarını tekrar kazandıklarını düşündürdü. Hastalık geliştikten sonra sigara bırakılması daha zorunlu gibi görülse de bu sonuç, sağlıklı asemptomatik içicilerin de sigara bırakma sonrası olumlu etkileneceğine işaret etmektedir. Sigara içimi ile anlamlı artış gösteren indükte balgam IL-4 düzeyine rağmen olgularımızda allerjik semptom ve bulgulara rastlanmadı. Sigaranın immünolojik bir uyarıcı olması nedeniyle Treg lenfositlerin aktivasyonu ile Th1 ve Th2 lenfosit fonksiyonlarını kontrol etmek amacıyla sigara içenlerde, antiinflamatuvar bir sitokin olan IL-10 düzeyinde sigara içme süresi ile giderek artış olduğunu saptadık. Sigara içen, bırakan ve hiç içmeyen olgular arasında inflamasyon yönünden parametrelerin tamamında anlamlı farklar saptanmadı. Bu nedenle sigara bırakmanın havayolu inflamasyonu üzerindeki etkileri konusunda net sonuçlar elde edilemedi. Ancak sigarayı bırakanlarda indükte balgam IgA düzeylerinde artış ve IL-4 düzeylerinin sigara içenlere göre anlamlı azalma göstermesi sigaranın bırakılması ile inflamasyonda azalma olabileceğini düşündürmüştür. Olgularımızın sağlıklı, asemptomatik



bireyler olması, olgu sayımızın az olması, olgularımızı genç popülasyonun oluşturması ve uzun süreli sigara maruziyetinin olmaması nedeniyle gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmemiş olabilir. Ancak hastanemiz personelinin gönüllü olarak çalışmaya dahil edilmesi, karşılaştırmada sigara içenlerin de genç olguların arasından seçilmesi zorunluluğunu getirmiştir. İleri yaşlarda yeterli sayıda sağlıklı kontrol grubu oluşturabilmek kolay değildir. Çalışmamız, genç popülasyonun akut sigara maruziyeti ile immün hücre profilinin kısa sürede olumsuz etkilenmediğini desteklemektedir. Sigara içiminin ve sigara bırakılmasının immünolojik etkilerinin daha net anlaşılması için, daha uzun süreli sigara içme alışkanlığı olan sağlıklı sigara içiciler ile yapılan, olgu sayısının daha çok olduğu çalışmalara ihtiyaç olduğu kanısındayız.

## 6. SONUÇ

Sigarayı bırakanlarda saptanan indükte balgam IgA düzey artışı sigaranın bırakılması ile havayolu inflamasyonunun geri dönüşümlü olabileceğini ve epitel hücrelerinin fonksiyonlarını tekrar kazandıklarını düşündürmüştür. Hastalık geliştikten sonra sigara bırakılması daha zorunlu gibi görülse de bu sonuç, sağlıklı asemptomatik içicilerin de sigara bırakma sonrası olumlu etkileneceğine işaret etmektedir. Sigara içimi ile IL-4 düzeylerinde anlamlı artış olmaktadır. Sigara içimi süresi ile korele olarak antiinflamatuvar sitokin olan IL-10 düzeyleri artış göstermektedir. Çalışmamız, genç

popülasyonun akut sigara maruziyeti ile immün hücre profilinin kısa sürede olumsuz etkilenmediğini desteklemektedir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Use of cigarettes and other tobacco products among students aged 13-15 years worldwide, 1999-2005. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2006; 55: 553.
2. Crofton ST. Tobacco and the third world, no tobacco. (Ed. Erkan F, Tabak L, Özkardeşler S.) İstanbul Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, 1991-1992 Sempozyumları, Akciğer Hastalıkları Derneği. 1992; 1-21.
3. Peto R, Lopez AD, Boreham J. Mortality from smoking in developed counties 1950-2000: indirect estimates from national vital statistics. Oxford University Press, 1994.
4. Hamzaçebi H, Ünsal M, Dabak Ş, Bilgin S, Aker S. Samsun Tekkeköy ilçesi ilköğretim öğrencilerinde sigara içme prevalansı ve etkileyen faktörler. Toraks Dergisi 2008; 9 (1): 34-9.
5. World Bank Curbing The Epidemic Governments and the Economics of Tobacco Control. 1999, Washington, World Bank.

6. Marshall L, Schooley M, Ryan H. Centers of Disease Control and Prevention. Youth tobacco surveillance-United States, 2001-2002 MMWR Surveil'l Summ. 2006; 55: 1-56.
7. PIAR araştırma LTD.ŞTİ. Sağlık ve Sosyal Yardım Bakanlığı, Sigara Alışkanlıkları ve Sigara ile Mücadele Kampanyası Kamuoyu Araştırması Raporu. İstanbul. 1988.
8. Türk Kardiyoloji Derneği, Türkiye Kalp Raporu 2000, İstanbul: Yenilik Basımevi; 2000: 11-7.
9. World Health Organization. The Tobacco Epidemic Rages On In Eastern and Central Europe. Fact Sheet No. 153. Geneva, Switzerland. 1997.
10. West R. Tobacco control: present and future. Br Med Bull 2006; 77-78: 123-36.
11. World Health Organization, Regional Office for Europe. European Strategy for Tobacco Control. 2002. Copenhagen, World Health Organization.
12. Karlıkaya C. Tütün ve ortak havayolu. Solunum Dergisi 2005; 7(1): 29-40.
13. Annual smoking-attributable mortality, years of potential life lost, and economic costs-United States, 1995-1999. MMWR Morb Mortal Wkyl Rep 2002; 51: 300-3.
14. Parrott S, Godfrey C, Raw M, West R, McNeill A. Guidance for commissioners on the cost effectiveness of smoking cessation interventions. Health Educational Authority. Thorax 1998; 53 (Suppl 5): 1-38.
15. Foster WM, Langenback EG, Bergofsky EH. Disassociation in the mucociliary function of central and peripheral airways of asymptomatic smokers. Am Rev Respir Dis 1985;132: 633-9.
16. Behr J, Nowak D. Tobacco smoke and respiratory disease. Eur Respir Mono 2002; 21: 161-179.
17. Peto R. Smoking and death: the past 40 years and the next 40. BMJ 1994; 309: 937-9.
18. Murray JL, Lopez AD. The global burden of disease, summary. World Bank Publication, 1996.
19. Ash UK. Smoking statistics: Illness and Death. Fact Sheet No:2. Erişim: <http://www.ash.org.uk/html/factsheets/html/fact02>; 2003.
20. US Department of Health and Human Services. A Report of Surgean General: The health consequences of smoking. Washington (DC), US Department of Health and Human Services. 1982.
21. Bain BJ, Rothwell M, Feher MD, Robinson R, Brown J, Sever PS. Acute changes in haematological parameters on cessation of smoking. J R Soc Med 1992; 85: 80-82.
22. Blann AD, Kirkpatrick U, Devine C, Naser S, McCollum CN. The influence of acute smoking on leucocytes, platelets and the endothelium. Atherosclerosis 1998; 141: 133-139.
23. Öztuna F. Sigaranın hücresel etkileri. Akciğer Arşivi 2004; 2: 111-116.
24. Sethi MJ, Rochester CL. Smoking and chronic obstructive pulmonary disease. Clin Chest Med 2000; 21: 67-86.
25. Graf W, Graf H, Wenz M. Tetrahymena pyriformis in the ciliate mobility test. Validation and description of a testing procedure for the registration of harmful substances in the air as well the effects of cigarette smoke on the human respiratory ciliated epithelium. Zentralbl Hyg Umweltmed 1999; 201:451-472.
26. Murin S, Bilello KS, Matthay R. Other smoking-affected pulmonary diseases. Clin Chest Med 2000; 21: 121-137.
27. Hasan SU. ATS statement –cigarette smoking and health. Am J Respir Crit Care Med 1996; 154: 1579-1580.
28. Ege E. Sigara ve amfizem. Sigara ve Sağlık (Ed: Özyardımcı N). Bursa 2002; 147-151.

29. Kuschner WG, D'Alessandro A, Wong H, Blanc PD. Dose-dependent cigarette smoking-related inflammatory responses in healthy adults. *Eur Respir J* 1996; 9: 1989-1994.
30. Holt GP. Immune and inflammatory function in cigarette smokers. *Thorax* 1987; 42: 241-9.
31. Kılıç Ş. Sigara ve İmmünite. Sigara ve Sağlık (Ed: Özyardımcı N). Bursa 2002; 188-193.
32. McCue JM, Link KL, Eaton SS, Freed BM. Exposure to cigarette tar inhibits ribonucleotide reductase and blocks lymphocyte proliferation. *J Immunol* 2000; 165: 6771-6775.
33. Laan M, Qvarfordt I, Riise GC, Anderson BA, Larsson S, Linden A. Increased levels of interleukin-16 in the airways of tobacco smokers: relationship with peripheral blood T lymphocytes. *Thorax* 1999; 54: 911-916.
34. Kılıçturğay K. İmmünoloji 2003. Nobel-Güneş Kitapevi 3; 9-113.
35. Mygind N, Dahl R, Pederson S, Pederson TK. Basic mechanism. *Essential Allergy*. Mygind N, Dahl R, Pederson S, Pederson TK, (Second ed.), Germany, Blackwell Science, pp: 9-60, 1996.
36. Sopori M. Effects of cigarette smoke on the immune system. *Science and Society* 2002; 2: 372-376.
37. Sopori M, Chandra C, Anthony J, Lester R, Bryant SC. Immune responsiveness of monkeys exposed chronically to cigarette smoke. *Clin Immun Immunopathol* 1985; 36: 338-344.
38. Sopori M, Goud NS. *AM in Immunotoxicology and Immunopharmacology* (eds Dean JH ) New York, Raven, pp: 413-433, 1994.
39. Reynolds HY. Bronchoalveolar lavage. *Am Rev Respir Dis* 1987; 135: 250-263.
40. McCrea KA. Altered cytokine regulation in the lungs of cigarette smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 696-703.
41. Kishimoto T. The biology of IL-6. *Blood* 1989; 74: 1-10.
42. Holt PG, Keast D. Environmentally induced changes in immunological function: acute and chronic effects of inhalation of tobacco smoke and other atmospheric contaminants in man and experimented animals. *Bacteriol Rev* 1977; 41: 205-216.
43. Ferson M, Edwards A, Lind A, Milton GW, Hersey P. Low natural-killer-cell activity and immunoglobulin levels associated with smoking in human subjects. *Int J Cancer* 1979; 23: 603-609.
44. D'Ippolito R, Foresi A, Chetta A, Castagnaro A, Malorgio R, Marangio E, Olivieri D. Eosinophils in induced sputum from asymptomatic smokers with normal lung function. *Respir Med* 2001; 95: 969-974.
45. Domagala KJ, Maskey WM, Krasszewzka I, Chazan R. The cellular composition and macrophage phenotype in induced sputum in smokers and ex-smokers with COPD. *Chest* 2003; 1234: 1054-1059.
46. Turato G, Di Stefano A, Maestrelli P. Effects of smoking cessation on airway inflammation in chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 1262-1267.
47. Yamamoto C, Yoneda T, Yoshikawa M. Airway inflammation in COPD assessed by sputum levels of IL-8. *Chest* 1997; 112: 505-510.
48. Skold CM, Hed J, Eklund A. Smoking cessation rapidly reduces cell recovery in bronchoalveolar lavage fluid, while alveolar macrophage fluorescence remains high. *Chest* 1992; 101: 989-995.

49. Jensen EJ, Pedersen B, Frederiksen R, Dahl R. Prospective study on the effect of smoking and nicotine substitution on leucocyte blood counts and relation between blood leucocytes and lung function. *Thorax* 1998; 53: 784-789.
50. Willemse BWM, Hacken NHT, Rutgers B, Lesman-Leegte IGAT, Postma DS, Timens W. Effect of 1- year smoking cessation on airway inflammation in COPD and asymptomatic smokers. *Eur Respir J* 2005; 26: 835-845.
51. Samurkaşoğlu B. Epidemiyoloji ve Risk Faktörleri. Güncel Bilgiler Işığında Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (Saryal BS, Acıcan T) Ankara, Bilimsel Tıp Yayınevi, 9-19, 2003.
52. Ando M, Sugimoto M, Nishi R, Suga M, Horio S, Kohrogi H, Shimazu K, Araki S. Surface morphology and function of human pulmonary alveolar macrophages from smokers and non-smokers. *Thorax* 1984; 39: 850-856.
53. Yoshida T, Tuder RM. Pathology of cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease. *Physiol Rev* 2007; 87: 1047-1082.
54. Wright JL, Hobson J, Wiggs BR, Hogg JC. Comparison of inflammatory cells in bronchoalveolar fluid with those in the lumen and tissue peripheral airways and alveolar airspace. *Lung* 1988; 166: 75-83.
55. Paggiaro PL. Sputum induction. *Eur Respir J* 2002; 20: Suppl. 37, 3-8
56. Pizzichini E. Safety of sputum induction. *Eur Respir J* 2002; 20: Suppl. 37, 9-18
57. Efthimiadis A, Spanevello A. Methods of sputum processing for cell counts, immunocytochemistry and in situ hybridisation. *Eur Respir J* 2002; 20: Suppl. 37, 19-23
58. Özkan B, Şimşek C, Önal M, Atasever M. Kronik obstrüktif akciğer hastalığında hava yolu inflamasyonunun indükte balgam ile değerlendirilmesi. *Solunum Hastalıkları* 2005; 16: 1-6
59. Belda J, Leigh R, Parameswaran K. Induced sputum cell counts in healthy adults. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 475-8
60. Chrysofrakis G, Tzanakis N, Kyriakoy D, Tsoumakidou M, Tsiligianni I, Klimathianaki M, Siafakas MN. Perforin expression and cytotoxic activity of sputum CD8+ lymphocytes in patients with COPD. *Chest* 2004; 125: 71-76
61. Yurdakul AS, Hoca NT, Çimen F, Atıkcın Ş, Şipit T, Atasever M, Balcı M. Airway inflammation and lymphocyte subset analysis in patients with chronic obstructive pulmonary disease and healthy smokers. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi* 2006; 54 (2): 122-127
62. Sunyer J, Springer G, Jamieson B, Conover C, Detels R, Rinaldo C, Margolick J, Munoz A. Effects of asthma on cell components in peripheral blood among smokers and non-smokers. *Clinical and Experimental Allergy* 2003; 33 (11): 1500-5.
63. Tzarakis N, Chrysofakis G, Tsourokidou M, Kyriakou O, Tsiligianni JB. Induced sputum CD8+ T-lymphocyte subpopulations in chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med* 2004; 98 (1): 57-65
64. Moszczynski P, Zabinski Z, Moszczynskijr P, Rutowski J, Slowinski S, Tabarowski Z. Immunological findings in cigarette smokers. *Toxicol Lett* 2001; 118 (3): 121-127.
65. Lams B, Souza AR, Rees PJ, Lee TH. Immunopathology of the small-airway submucosa in smokers with and without chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158 (5): 1518-1523 .
66. Mili F, Flanders WD, Boring JR, Annet JL, Destefano F. The association of race, cigarette smoking and smoking cessation to measures of the immune system in middle-aged men. *Clin Immunol Immunopathol* 1991; 59 (2): 187-200.

67. Ussher M, West R, Evans P, Steptoe A, McEwen A, Clow A, Hucklebridge F. Acute reduction in secretory immunoglobulin A following smoking cessation. *Psychoneuroendocrinology* 2004; 29(10): 1335-40.
68. Ceyhan BB, Enc YF, Sahin S. IL-2 and IL-10 levels in induced sputum and serum samples of asthmatics. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2004; 14(1): 80-85
69. Del Prete G, DeCarli M, Almerigogna F, Giudizi MG, Biagiotti R, Romagnani S. Human IL-10 is produced by both type 1 helper (Th1) and type 2 helper (Th2) T cell clones and inhibits their antigen-specific proliferation and cytokine production. *J Immunol* 1993; 150: 353-360.
70. Taga K, Mostowski H, Giovanna T. Human IL-10 can directly inhibit T-cell growth. *Blood* 1993; 11: 2964-2971.
71. Fiorentino DF, Bond MW, Mosmann TR. Two types of mouse helper T cells: IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *J Exp Med* 1989; 170: 2081-2095.
72. Fiorentino DF, Ziotnik A, Vieira P, Mosmann TR, Howard M, Moore KW, O'Garra A. IL-10 acts on the antigen presenting cell to inhibit cytokine production by Th1 cells. *J Immunol* 1991; 146: 3444-51.
73. Atkinson JJ, Senior RM. Matrix metalloproteinase-9 in lung remodeling. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003; 28: 12-24.
74. Xu L, Cai BQ, Zhu YJ. Pathogenesis of cigarette smoke-induced chronic pulmonary disease and therapeutic effects of glucocorticoids and N-acetylcysteine in rats. *Chin Med J (Eng)* 2004; 117 (11): 1611-9.
75. Byron KA, Varigos GA, Wootton AM. IL-4 production is increased in cigarette smokers. *Clin Exp Immunol* 1994; 95: 333-336.
76. Hagiwara E, Takahashi K, Okubo T, Ohno S, Ueda A, Aoki A, Odagri S, Ishigatsubo Y. Cigarette smoking depletes cells spontaneously secreting Th1 cytokines in the human airway. *Cytokine* 2001; 14(2): 121-126.
77. Zhang S, Petro TM. The effect of nicotine on murine CD4 T cell responses. *Int J Immunopharmacol* 1996; 18: 467-478.
78. Kotani N, Hashimoto H, Sesler DI, Yatsu Y, Muraoka M, Matsuki A. Exposure to cigarette smoking impairs alveolar macrophage functions during halothane anesthesia in rats. *Anesthesiology* 1999; 91: 1823-1833.
79. Gajewski TF, Schell SR, Nau G, Fitch FW. Regulation of T cell activation: differences among T cell subsets. *Immunol Rev* 1989; 111: 79-110.
80. Oosterhout AJM, Bloksma N. Regulatory T-lymphocytes in asthma. *Eur Respir J* 2005; 26: 918-932.
81. Mungan D, Türkteş H. Astım. *Akciğer Hastalıkları Temel Bilgiler*. (Özlü T, Metintaş M, Ardiç S) Ankara, Poyraz Yayıncılık, 299-321, 2008.
82. Papadopouli E, Tzanakis N, Tsoumakidou M, Kyriakoy D, Plataki M, Mantzouranis CE, Siafakas MN. Comparison of induced sputum inflammatory profiles between childhood and adult-onset asthma. *Respir Med* 2006; 100: 1442-1450.

