

---

# Kronik obstrüktif akciğer hastaları ve astımlılarda indükte balgamda MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri

Mukadder ÇALIKOĞLU<sup>1</sup>, Ali ÜNLÜ<sup>2</sup>, Lülüfer TAMER<sup>2</sup>, Eylem ÖZGÜR<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı,  
<sup>2</sup> Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Mersin.

## ÖZET

**Kronik obstrüktif akciğer hastaları ve astımlılarda indükte balgamda MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri**

Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) ve astım, hava yolları ve akciğerde yapısal değişikliklerle seyreden hastalıklar olup, bu süreçte metalloproteinazların rol oynadığı düşünülmektedir. Çalışmamızın amacı; stabil dönemdeki KOAH ve astımlı hastaların hava yollarındaki matriks metalloproteinaz-9 (MMP-9) ve matriks metalloproteinaz doku inhibitörü (TIMP)-1'in düzeylerini belirlemek ve sağlıklılarla karşılaştırmaktır. Yirmiiki stabil KOAH, 20 stabil astımlı hasta ve 15 sağlıklı kontrolün indükte balgamında MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri ELISA ticari kitleri kullanılarak ölçüldü. MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri hasta gruplarında sağlıklı kontrollere göre yüksekti. KOAH hastalarında MMP-9 ve TIMP-1 kontrol grubundan anlamlı yüksekti (sırayla;  $p= 0.0001$ ,  $p= 0.0001$ ). Benzer şekilde astım hastalarında MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri de kontrol grubundan daha yüksekti (sırayla;  $p= 0.005$ ,  $p= 0.002$ ). Ancak MMP-9 düzeyleri hasta grupları arasında anlamlı farklılık göstermezken ( $p= 0.29$ ), TIMP-1 düzeyleri KOAH'lı hastalarda belirgin yüksekti (sırayla;  $96.2 \pm 58.2$ ,  $52.8 \pm 52$   $\mu\text{g}/\text{mg}$  protein,  $p= 0.0001$ ). Atopik astım hastalarında TIMP-1 düzeyleri nonatopik astımlılara göre anlamlı olmamakla beraber hafifçe yüksekti ( $p> 0.05$ ). Tüm gruplarda solunum fonksiyon testleri ile TIMP-1 düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon yokken, KOAH'lılarda  $\text{FEV}_1$  L, astımlılarda da FVC % değerleri arasında korelasyon bulundu. Bilinen patogenetik farklılıklara rağmen, proteaz-antiproteaz düzeylerinde her iki hasta grubunda da izlenen bu artış bronşiyal ve parankimal düzeyde oluşan yapısal değişikliklerle ilişkili olabilir ve artmış proteaz/antiproteaz düzeylerini düzenlemeyi hedefleyen yeni tedavi stratejileri KOAH ve bazı astım hastaları için umut verici olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** KOAH, astım, proteaz/antiproteaz aktivite.

---

## Yazışma Adresi (Address for Correspondence):

Dr. Mukadder ÇALIKOĞLU, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, MERSİN - TÜRKİY

**SUMMARY****MMP-9 and TIMP-1 levels in the sputum of patients with chronic obstructive pulmonary disease and asthma**Mukadder ÇALIKOĞLU<sup>1</sup>, Ali ÜNLÜ<sup>2</sup>, Lülüfer TAMER<sup>2</sup>, Eylem ÖZGÜR<sup>1</sup><sup>1</sup> Department of Chest Disease, Faculty of Medicine, Mersin University, Mersin, Turkey,<sup>2</sup> Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Mersin University, Mersin, Turkey.

Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and asthma are associated with morphological changes in airway and lung and metalloproteinases are thought to play a role in this destruction. The aim of this study is to compare the levels of matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases (TIMP)-1 in the airways of COPD and asthma patients in stable period. We measured MMP-9 and TIMP-1 levels in the induced sputum of 20 asthma, 22 COPD patients in stable period and 15 healthy controls. MMP-9 and TIMP-1 levels were measured by using ELISA kits. MMP-9 and TIMP-1 levels were higher in patient groups than the controls. In COPD patients MMP-9 and TIMP-1 were significantly higher than the controls (respectively;  $p= 0.0001$ ,  $p= 0.0001$ ). Similarly, in asthma patients MMP-9 and TIMP-1 levels were higher than the controls (respectively;  $p= 0.005$ ,  $p= 0.002$ ). However, while there were no significant difference in MMP-9 levels between the patient groups ( $p= 0.29$ ), TIMP-1 levels were significantly higher in COPD patients ( $96.2 \pm 58.2$  versus  $52.8 \pm 52$   $\mu\text{g}/\text{mg}$  protein, respectively,  $p= 0.0001$ ). Atopic asthma patients TIMP-1 levels were slightly higher than non-atopic asthma patients ( $p> 0.05$ ). There was no significant correlation between FEV<sub>1</sub> and MMP-9 or TIMP-1 levels in all groups. Although known pathogenetic differences in COPD and asthma, the increases in protease-antiprotease levels in both two patient groups may be associated with bronchial and parenchymal morphological changes. New treatment strategies which are focused on modulating of increased protease-antiprotease levels may be give a hope to patients with COPD and asthma.

**Key Words:** COPD, asthma, protease/antiprotease activity.

Hava yolu inflamasyonu astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH)'nda izlenen temel özellik olmakla beraber, her iki hastalıkta ki inflamasyon profili birbirinden farklıdır (1). KOAH'daki inflamasyonun patogenezi multifaktöriyel olup, temelde nötrofilik inflamasyon ve artmış oksidatif yükke ilişkili iken, astımda genellikle geri dönüşümlü bir hava yolu tıkanıklığı ile seyreden eozinofilik inflamasyon söz konusudur (2,3).

Son yıllarda hava yolları ve akciğer parankiminde morfolojik değişikliklerle seyreden astım ve KOAH patogenezinde proteaz/antiproteaz dengesindeki bozulmanın rol oynadığı ileri sürülmektedir (4,5). Bu dengede önemli yere sahip olan matriks metalloproteinazları (MMP) hem astım hem de KOAH'ın özelliği olan doku yeniden yapılanmasının vazgeçilmez öğeleridir (6,7). Bu enzimler normal şartlarda sadece ha-

sarlanmış matriksi parçalayarak normal doku onarım dengesini sağlarken, patolojik süreçlerde artan üretim ve aktiviteleri uygun olmayan onarım mekanizmaları ile doku hasarı ve yeniden yapılanmaya neden olur (8).

Makrofajlar başta olmak üzere inflamatuvar ve yapısal hücreler tarafından sentezlenen MMP'ler protein zincirlerinin peptid bağlarını kırarak etki gösterir (9). Bunlardan MMP-2 (jelatinaz A veya 72 kDa jelatinaz), MMP-7 (matrilysin), MMP-9 (jelatinaz B veya 92 kDa jelatinaz) ve MMP-12 (makrofaj metalloelastaz) ekstraselüler matriksin önemli bir bileşeni olan kollajen tip 4'ü parçalama yeteneğine sahiptir. Özellikle MMP-2 ve 9, kollajen tip 4 ve diğer matriks proteinlerini parçalayarak bazal membran yıkımında önemli rol oynamaktadır (10,11).

Normalde akciğerler antiproteolitik aktiviteleri ile proteazlara karşı yeterli bir korumaya sahip-

tir. Alfa 1 antitripsin (AAT), alfa 2 makroglobulin, sekretuar lökoproteaz inhibitörü (SLPI) gibi maddeler akciğerdeki proteolitik savunmanın temel öğeleridir (9). Fibroblast ve makrofajlar bu endopeptidazların proteolitik etkilerinin selektif inhibisyonunu sağlayan endojen doku metalloproteinaz inhibitörlerini (TIMP) de üretir (6). Bugüne kadar dört farklı TIMP tanımlanmış olup, bunların içinde en geniş dağılım gösteren TIMP-1'dir ve tüm aktif MMP'leri geri dönebilir nonkovalan bağlar oluşturarak inhibe eder (11,12). TIMP-1 MMP-9'un hem aktif hem de inaktif ilk formunun inhibisyonunda etkili bulunmuştur (11).

İnflamatuvar akciğer hastalıklarında oksidanlar ve proteazların etkileşimleri ve proteaz/antiproteaz dengedeki bozulma ile meydana geldiği düşünülen bir akciğer hasarından söz edilmektedir (9,2). Oksidanlar hücre veya fonksiyonlarının bozulmasına neden olarak ya da antiproteazların protein yapılarını değiştirerek aktivitelerini engelleyebilir. Sigara dumanı ve diğer bazı inhale oksidanlara bağlı olarak AAT ve SPLI gibi majör antiproteazların inhibe edildiği gösterilmiştir. Et-yopatogenezinde oksidanlar/proteazların etkileşimlerinin suçlandığı hastalıklar arasında KOAH, astım, bronşektazi, kistik fibrozis ve akut solunum sıkıntısı sendromu gibi klinik durumlar işaret edilmektedir (9).

Çeşitli çalışmalarda KOAH ve astımlı hastalarda sağlıklılara göre MMP'nin ve bunların endojen inhibitörleri olan TIMP'lerin yüksek bulunduğu bildirilmektedir (4,5,13,14). Ancak patogenezi bazı noktalarda birbiriyle örtüşmekle beraber farklı klinik gidiş ve tedavi yanıtlarına sahip bu iki hastalıktaki MMP ve TIMP düzeylerini karşılaştıran çalışma sayısı oldukça sınırlıdır (5).

Çalışmamızın amacı; stabil dönemdeki KOAH ve astımlılarda indükte balgamda MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerinin birbirleriyle ve sağlıklı kontrollerle karşılaştırılması ve solunum fonksiyonları ile ilişkisinin araştırılmasıdır.

## MATERYAL ve METOD

### Hasta Özellikleri

Çalışmamıza stabil dönemdeki 22 hafif-orta KOAH, 20 hafif astımlı hasta ile kontrol grubu olarak 15 sağlıklı sigara içmeyen birey dahil

edildi. Çalışmaya dahil edilen tüm hastalar ve sağlıklı kontrollerden detaylı bir öykü alındıktan sonra, tüm katılanların fizik muayeneleri yapıldı; arka-ön ve sol yan akciğer grafileri çekildi; tam kan sayımı, kan örneğinde rutin biyokimyasal testler, prik cilt testleri ve solunum fonksiyon testleri uygulandı.

Kontrol grubu hastane çalışanları arasından seçildi ve herhangi bir sistemik veya solunumsal yakınması olmayan, fizik muayeneleri, rutin biyokimyasal testleri, akciğer radyolojik incelemeleri ve solunum fonksiyon testleri normal olan, öyküsünde ve prik cilt testlerinde atopi ile ilişkili özellik taşımayan bireylerden oluşturuldu.

KOAH'lı bütün hastalar sigarayı en az bir yıl önce bırakmış, en az son üç aydır klinik olarak stabil ve son bir ay içinde sistemik ve/veya inhale steroid tedavisi almamış hastalardı. Hastalarda KOAH tanısı GOLD (Global Strategy for Diagnosis, Management and Prevention of COPD) rehberine göre konuldu ve solunum fonksiyon testlerinde FEV<sub>1</sub>/FVC'si beklenenin %70'inden düşük olan hastalar KOAH olarak kabul edildi (15).

Astım grubu sigara içmeyen, kliniğimize başvurmadan önceki son üç ay içinde solunum yolu enfeksiyonu ve astım atağı geçirmemiş ve son bir aydır sistemik ve/veya inhale steroid kullanmayan hastalar arasından seçildi. Hastaların tanısı, GINA (Global Strategy for Asthma Management and Prevention) da belirtildiği gibi öncelikle öyküyle (aralıklı hışırtılı solunum, öksürük ve göğüs sıkışma hissi yakınmalarının olması veya atopi ya da pozitif prik cilt testi ile öyküsü) konuldu ve erken reversibilite testiyle desteklendi (16). Prik cilt testleri modifiye prik tekniği kullanılarak uygulandı. 3 mm'nin üzerindeki endürasyon pozitif test olarak değerlendirildi. Atopi bir veya daha fazla inhalan allerjene pozitif cilt testi yanıtı olarak tanımlandı.

Solunum fonksiyon testleri göğüs hastalıkları polikliniğinde deneyimli bir teknisyen tarafından Vmax 22 D Sensormedix (California, USA) cihazı kullanılarak üç kez yapıldı. Çalışmaya katılan tüm deneklerde FEV<sub>1</sub>, FVC, FEV<sub>1</sub>/FVC ve VC değerleri ölçüldü ve en iyi ölçümler değerlendirilmeye alındı.

### Balgam İndüksiyon Yöntemi

Sabit konsantrasyondaki (%4.5) hipertonic tuzlu su 30 saniyeden sekiz dakikaya kadar giderek artan sürelerle (ortalama iki dakika) ultrasonik nebülizatör aracılığı ile tidal solunum sırasında inhale ettirildi. Her inhalasyon periyodundan sonra hastalar öksürtülerek balgam çıkartılmaya çalışıldı. Yeterli miktarda balgam elde edilinceye kadar (en az 1 mL) işleme devam edildi. İndüksiyonun güvenli olabilmesi için, her inhalasyon periyodu sonrası FEV<sub>1</sub> ölçümleri yapıldı ve FEV<sub>1</sub>'deki düşme %10'un altında ise, bir sonraki inhalasyon periyoduna devam edildi. Düşme %10 ile %20 arasında ise, aynı konsantrasyon ile işlem tekrarlandı. FEV<sub>1</sub>'deki düşme %20'den fazla ise veya göğüste sıkışma hissi, öksürük, hışıltı gibi yakınmalar geliştiğinde indüksiyon sonlandırıldı. Balgam ekspektorasyonundan önce tükürük ve postnazal akıntı kontaminasyonunu azaltmak için su ile ağız ve boğaz çalkalandı (17). Farklı günlerde olmak üzere toplam üç kez yapılan balgam indüksiyonuna karşın yeterli balgam veremeyen ve yukarıdaki şartları sağlamayan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Balgam indüksiyon testi için hastalara işlemle ilgili detaylı bilgi verildi ve yazılı onaylarını gösteren bir onam formu doldurulduktan sonra işleme başlandı.

### Balgam Örneklerinin Hazırlanması

Balgam örnekleri mümkün olan en kısa sürede işleme alındı ve bu süre iki saati geçmedi. Biz çalışmamızda seçilmiş balgam incelemesi yöntemini kullanarak ekspektore edilen materyalin daha koyu, visköz olan bölümlerini alıp, mukusun disülfid bağlarını açarak mukoliz sağlayan %0.1'lik dithiothreitol (DTT) ile muamele ettik. %0.1'lik DTT karışımı, Hank'sın dengeli tuz solüsyonu (HBSS) kullanılarak elde edilir. Balgam ve DTT karışımı oda ısısında kap içinde çalkalanarak homojenizasyonu sağlandı. Karışımın daha fazla dilüsyonunun sağlanması için; karışıma 10 mL oluncaya kadar saf HBSS ekleyerek ya da balgam ve DTT karışımı miktarı kadar "phosphate buffered saline (PBS)" ekleyerek işlem sürdürüldü. Elde edilen karışımın santrifüjü, oda ısısında 1000 g 10 dakika ya da yine oda ısısında 300 g-400 g 10 dakika ya da +4°C'de

300 g 10 dakika olacak şekilde yapıldı, çöken kısım ve süpernatant ayrıldı. Örnekler tartıldıktan sonra dört kat %0.1 DTT ile karıştırılarak 15 saniye süresince vortekslendi ve takiben 15 dakika oda ısısında inkübe edildi. DTT'ye eşit volumde Dulbecco's PBS ile karıştırıldı, beş dakika çalkalandıktan sonra, 48 mm naylon gazlı bezden filtre edildi, 10 dakika 800 g'de santrifüj edildi, elde edilen süpernatant analiz yapılmaya kadar 20°C'de saklandı (18).

### MMP-9 ve TIMP-1 Analizi

Elde edilen süpernatantlardan MMP-9 ve TIMP-1 protein düzeyleri mikroELISA yöntemiyle hazır kit kullanarak ölçüldü (QIA 56 kod Calbiochem, İngiltere).

### İstatistiksel Analiz

Gruplar arası farklılık SPSS 10.0 analiz programı kullanılarak Oneway ANOVA ve independent sample testleri kullanılarak gerçekleştirildi. Sonuçlar ortalama standart sapma olarak verildi ve p < 0.05 olanlar anlamlı olarak kabul edildi. Korelasyon analizi için Pearson korelasyon testi kullanıldı.

### BULGULAR

Gruplara ait demografik ve klinik özellikler Tablo 1'de izlenmektedir.

KOAH'lı hastalarda FEV<sub>1</sub> ve FEV<sub>1</sub>/FVC düzeyleri sağlıklı kontrollere (sırayla; p= 0.0001, p= 0.0001) ve astımlı hastalara (sırayla; p= 0.0001, p= 0.007) göre düşüktü. Hastaların beşi (hafif) evre I (% FEV<sub>1</sub> > 80), 17'si (orta) evre IIA (% FEV<sub>1</sub> = 50-80) KOAH idi. Hastalarımız arasında ağır KOAH'lı olgu yoktu (Tablo 2).

MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri her iki hasta grubunda da kontrol grubuna göre yüksek olup, KOAH'lı hastalarda MMP-9 ve TIMP-1 yüksekliği için istatistiksel anlamlılık söz konusu idi (sırayla; p= 0.0001, p= 0.0001). Benzer şekilde astımlı hastalarda da sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (sırayla; p= 0.005, p= 0.002).

KOAH ve astım hastaları MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri bakımından karşılaştırıldıklarında ise bu değerler KOAH'lılarda daha yüksek olması-

**Tablo 1. Gruplara ait demografik ve klinik özellikler.**

	Kontrol (n= 15)	Astım (n= 20)	KOAH (n= 22)
Yaş (yıl)	54.4 ± 9.6	49.9 ± 9.3	59.9 ± 10
Cinsiyet (kadın/erkek)	6/9	12/8	7/15
Sigara öyküsü (paket/yıl)			
Hiç içmemiş	13	3	-
Bırakmış	2 (15)	17 (21)	22 (24)
FEV <sub>1</sub> L	3.8 ± 0.3	2.7 ± 0.7	1.7 ± 0.4
FEV <sub>1</sub> %	97.4 ± 22.5	93 ± 11.5	74.3 ± 11.2
FVC L	4.4 ± 0.4	3.9 ± 0.5	2.9 ± 0.6
FVC %	106 ± 7.4	99 ± 11.0	76.5 ± 8.4
FEV <sub>1</sub> /FVC	86.1 ± 5.0	70 ± 11.7	59.8 ± 10.1
Atopi (%)	-	8 (%40)	-

FEV<sub>1</sub>: Birinci saniyede çıkarılan zorlu ekspiratuar hacim, FEV<sub>1</sub>/FVC: Birinci saniyede çıkarılan zorlu ekspiratuar hacim/zorlu vital kapasite, KOAH: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı.

**Tablo 2. Gruplara ait indükte balgam MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri.**

İndükte balgam	Kontrol (n= 15)	KOAH (n= 22)	Astım (n= 20)
MMP-9 (µg/mg/protein)	0.77 ± 0.3	1.65 ± 1.5	1.24 ± 1
TIMP-1(µg/mg/protein)	21.4 ± 12	96.2 ± 58.2	55.1 ± 52.3

MMP-9: Matris metalloproteinaz-9, TIMP-1: Doku metalloproteinaz inhibitörü-1, KOAH: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı.

na karşın MMP-9 bakımından aralarında anlamlı fark bulunmadı (p= 0.29). TIMP-1 düzeyleri ise KOAH'lı hastalarda astımlılara göre istatistiksel anlamlılık ifade edecek şekilde yüksekti (p= 0.02).

Atopik (n= 8) astımlılarda MMP-9 düzeyi ortalaması 1.30 ± 0.9 µg/mg/protein, TIMP-1 düzeyi ortalaması 55.5 ± 51.1 µg/mg/protein şeklinde olup, nonatopik (n= 12) astımlı hastalardan hafif yüksekti (MMP-9= 1.20 ± 1.12 µg/mg/protein, TIMP-1= 51.11 ± 50.16 µg/mg/protein) ancak aralarında anlamlı fark gözlenmedi (p> 0.05).

KOAH, astım ve sağlıklı kontrol gruplarında solunum fonksiyon testleri ile MMP-9 veya TIMP-1 düzeyleri arasındaki ilişki Tablo 3'te gösterilmektedir.

### TARTIŞMA

Çalışmamızda KOAH ve astımlı hastaların indükte balgamlarında sağlıklı kontrollere göre artmış MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri saptandı ve

bu artış özellikle KOAH'lı hastalarda daha belirgindi. Bu hasta grubunda bronkoalveoler lavaj (BAL), akciğer dokusu, balgam, periferik kan granülositleri gibi değişik örneklerde MMP'lerin arttığı önceki çalışmalarda da bildirilmektedir (5,17,19).

MMP'ler ve doku inhibitörleri arasındaki dengenin bozulması astım, KOAH, pulmoner fibrozis, akciğer kanseri gibi birçok hastalık durumunda kritik rol oynamaktadır (12). Proteaz-antiproteaz aktivite dengesizliğinin sigaraya bağlı gelişen kronik akciğer hastalıklarında da anahtar rol oynadığı düşünülmektedir. Özellikle MMP-9 ve 12 olmak üzere MMP'ler sigara içenlerde BAL'daki elastolitik aktivitenin büyük bir kısmından sorumlu olarak kabul edilir ve salınımları sigara dışında birçok inflamatuvar mediatör, sitokin ve yüzey moleküllerinin etkisi altındadır (20-22).

KOAH grubunda proteaz ve antiproteaz düzeylerinde izlenen bu belirgin yükseklik hastalığın patogenezindeki inflamatuvar farklılıklardan kay-

**Tablo 3. Solunum fonksiyon testleri ile MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri arasındaki ilişki.**

	MMP-9 (µg/mg/protein)		TIMP-1 (µg/mg/protein)	
	r	p	r	p
% FEV <sub>1</sub>				
KOAH	0.40	0.06	0.14	0.52
Astım	0.10	0.65	-0.48	0.84
Kontrol	0.18	0.52	-0.18	0.51
FEV <sub>1</sub> L				
KOAH	0.46	0.03	0.15	0.48
Astım	0.31	0.17	-0.25	0.31
Kontrol	0.33	0.21	-0.85	0.76

MMP-9: Matriks metalloproteinaz-9, TIMP-1: Doku metalloproteinaz inhibitörü-1, KOAH: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı.

naklanabileceği gibi, KOAH hastalarının hemen tümünde geçmişte sigara içme öykülerinin olması ile ilişkili de olabilir. KOAH'lılarda temel etyolojik faktör olan sigara içimi ile başlayan patolojik süreç sigaranın bırakılmasından sonra da devamlılık gösteriyor olabilir. Culpitt ve arkadaşları, sigara içen sağlıklı kişilerde MMP-9 düzeylerini sigara içmeyen sağlıklı kişiler ve sigara içmeyen astımlılara göre anlamlı yüksek bulmuştur. Aynı çalışmada sigara içen KOAH'lı hastalarda ise MMP-9 düzeyleri en yüksek kaydedilmiş, ancak bu MMP-9 yüksekliği ile sigara yükü arasında anlamlı bir ilişki gösterilmemiştir (5). Çalışmamızda da sigara içmeyen astımlılardaki proteaz ve antiproteaz düzeyleri sigara içmeyen sağlıklı kişilere göre yüksekti.

Astım ve KOAH'da izlenen inflamatuvar süreç sırasında oksidan yükün arttığı ve oksidan/antioksidan dengenin bozulduğu bilinmektedir (17,23,24). Oksidanlar hücre ölümü veya fonksiyonlarının bozulmasına neden olarak veya antiproteazların protein yapılarını değiştirerek AAT gibi önemli antiproteazların aktivitelerini engelleyebilir. Sigara içenlerde BAL incelemelerinde oksidasyona bağlı olarak AAT'nin kısmen inaktif olarak nötrofilik elastazın yetersiz inhibisyonuna neden olduğu gösterilmiştir. SPLI gibi diğer majör antiproteazlar da benzer yollarla hücre kaynaklı ya da inhale edilen oksidanlarca inaktif edilebilir. Böylece oksidanlar ve proteazlar akciğer dokusunda hem direkt hem de antioksidanları ve antiproteazları inhibe ederek indirekt yollarla hasar oluşturabilir (9).

Biz KOAH'lı hastalarda TIMP-1 ile ifade edilen antiproteaz düzeylerini hem astımlılar hem de sağlıklı kontrollere göre yüksek bulduk. Bu, artmış proteolitik aktiviteyi nötralize etmek üzere organizmanın geliştirdiği bir savunma mekanizması olarak düşünülebilir. KOAH'lı hastalarda artmış oksidatif stresin proteaz inhibitörlerinin aktivitelerini azaltıcı etkilerinden kaynaklanan bir aşırı salınım da söz konusu olabilir. KOAH'lı hastalarda TIMP-1 düzeylerindeki artışı bildiren farklı çalışmalar da bulunmaktadır (5,19,25,26).

Bizim sonuçlarımıza göre astımlı hastalar da sağlıklı kontrollere göre yüksek MMP-9 ve TIMP-1 düzeylerine sahipti.

Bronşiyal astımda en çok üzerinde durulan matriks proteazı MMP-9 olup, yapısal hücrelerden ziyade inflamatuvar hücrelerden üretildiği ve hava yolu epitelin onarım mekanizması ile hücre migrasyonunda önemli rol aldığı ileri sürülmektedir (27). Çalışmalarda astımlı hastalarda BAL, balgam, serum gibi değişik örneklerde MMP düzeyinin ve bronşiyal biyopsi örneklerinde MMP immünreaktivitesinin arttığı gösterilmiştir (28). Çalışmamızda da saptadığımız artmış MMP-9 seviyesi astımda hava yolu yeniden yapılanması ile sonuçlanan bronşiyal hasarın başlaması ile ilişkili olarak yorumlanabilir. Ayrıca, BAL, balgam ve hava yolu biyopsi örneklerinde MMP-9 aktivitesi ile nötrofil sayısı arasında anlamlı bir ilişkinin olduğu bildirilmektedir. Özellikle ağır şiddette veya status seviyesinde astımlı hastaların BAL'ında MMP-9 aktivitesi ile nötrofil infiltrasyonu

nu arasında güçlü ilişkinin gösterilmesi, bu grup hastalardaki dirençli nötrofil infiltrasyonunun hava yollarındaki hasara katkısını ortaya koymaktadır (29-31). KOAH patogenezinde hakim olduğu bilinen nötrofilik hava yolu inflamasyonu da bu hasta grubunda MMP-9 düzeylerinin astımlılara göre daha yüksek oluşunu açıklayabilir.

Astmatik kişilerin eozinofillerinde de MMP-9 ekspresyonunun ve bu eozinofillerin hava yolu bazal membranına göçünün arttığı gösterilmiş ve buna dayanarak MMP inhibisyonunun astım için yeni bir tedavi stratejisi olabileceği vurgulanmıştır (32,33).

Biz çalışmamızda grupların hiçbirinde solunum fonksiyon testleri ile TIMP-1 düzeyleri arasında herhangi bir ilişki gösteremedik, ancak astımlı hastalarda MMP-9 düzeyi ile % FVC ve KOAH'lı hastalarda MMP-9 ile FEV<sub>1</sub> L değeri arasında anlamlı ilişki bulduk. Yeni yayımlanmış bir çalışmada MMP ve TIMP-1 düzeyleri ile % FEV<sub>1</sub> arasında negatif bir ilişkinin olduğu ileri sürülmektedir (5). Benzer sonuçlar değişik çalışmalarda gösterilmiş olmakla beraber konuyla ilgili farklı sonuçlar da bildirilmektedir (13,19,34,35).

Bilinen patogenetik farklılıklarına karşın her iki hastalıkta da izlenen artmış MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri bu hastalıklardaki inflamatuvar sürecin bir sonucu gibi görünmektedir. Bu artmış proteaz/antiproteaz düzeylerinin astım ve KOAH etyopatogenezindeki rolü tam olarak bilinmemekle beraber, oluşan yapısal değişikliklerde sorumluluğu olduğu dikkate alınabilir.

Metalloproteinazlar ve doku inhibitörlerinin patogenezdaki yerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar ve bu hastalarda artmış proteaz/antiproteaz aktiviteyi düzenlemeyi hedefleyen yeni tedavi stratejileri özellikle nötrofilik hava yolu inflamasyonu ile seyreden KOAH ve bazı astım hastaları için umut verici olabilir.

## KAYNAKLAR

1. Sutherland ER, Martin RJ. Airway inflammation in chronic obstructive pulmonary disease: Comparisons with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112: 819-27.
2. Repine JE, Bast A, Lankhorst I. The Oxidative Stress Study Group. Oxidative stress in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Crit Care Med* 1997; 156: 341-57.
3. Hargreave FE, Gibson GP. Evidence from induced sputum. In: Holgate ST, William WB (eds). *Inflammatory Mechanisms in Asthma*. New York: Basel, 1998: 75-88.
4. Demedts IK, Brusselle GG, Bracke KR, et al. Matrix metalloproteinases in asthma and COPD. *Curr Opin Pharmacol* 2005; 5: 257-63.
5. Culpitt SV, Rogers DF, Traves SL, et al. Sputum matrix metalloproteinases: Comparison between chronic obstructive pulmonary disease and asthma. *Respir Med* 2005; 99: 703-10.
6. Ohbayashi H. Matrix metalloproteinases in lung diseases. *Curr Protein Pept Sci* 2002; 3: 409-21.
7. Kelly EA, Jarjour NN. Role of matrix metalloproteinases in asthma. *Curr Opin Pulm Med* 2003; 9: 28-33.
8. Delcaux C, Delacourt C, d'Ortho M, et al. Role of gelatinase B and elastase in human polymorphonuclear neutrophil migration across basement membrane. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1996; 14: 288-94.
9. Buhl R, Meyer A, Vogelmeier C. Oxidant-protease interaction in the lung. *Chest* 1996; 110: 267-72.
10. Dunsmore SE, Saarialho-Kere UK, Roby JD, et al. Matrix metalloproteinase expression and function in airway epithelium. *J Clin Invest* 1998; 102: 1321-31.
11. Triebel S, Blaser J, Gote T, et al. Evidence for the tissue inhibitor of metalloproteinases-1 (TIMP-1) in human polymorphonuclear leukocytes. *Eur J Biochem* 1995; 231: 714-9.
12. Labierte R, Rpuabhia M, Bosse M, and Chakir J. Decreased capacity of asthmatic bronchial fibroblasts to degrade collagen. *Matrix Biology* 2001; 19: 743-53
13. Prikk K, Maisi P, Pirila E, et al. Airway obstruction correlates with collagenase-2 (MMP-8) expression and activation in bronchial asthma. *Lab Invest* 2002; 82: 1535-45.
14. Tanaka H, Miyazaki N, Oashi K, et al. Sputum matrix metalloproteinase-9: Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 ratio in acute asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2000; 105: 900-5.
15. Global Strategy for Diagnosis, Management and Prevention of COPD. NHLBI/WHO Workshop Report: Bethesda, National Heart, Lung and Blood Institute. Apr 2001; NIH Publication No: 2701: 1-100. Updated of the Management Sections, GOLD Website. Updated 2003.
16. National Institutes of Health. National Heart, Lung, and Blood Institute. Global Initiative for Asthma: Global Strategy for Asthma Management and Prevention NHLBI/WHO Workshop Report: 2002.
17. Nagata M. Inflammatory cells and oxygen radicals. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2005; 4: 503-4.
18. Türkteş H, Kalyoncu F, Gemicioglu B ve ark. Astımda tanıya yönelik pratik uygulama kılavuzu. *Toraks Dergisi* 2003; 4 (Ek).

19. Higashimoto Y, Yamagata Y, Iwata T, et al. Increased serum concentrations of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in COPD patients. *Eur Respir J* 2005; 25: 885-90.
20. Shapiro SD. Elastolytic metalloproteinases produced by human mononuclear phagocytes: Potential roles in destructive lung disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 160-64.
21. Janoff A, Raju L, Dearing R. Levels of elastase activity in bronchoalveolar lavage fluids of healthy smokers and nonsmokers. *Am Rev Respir Dis* 1983; 127: 540-44.
22. Zheng T, Zhu Z, Wang Z, et al. Inducible targeting of IL-13 to the lung cause matrix metalloproteinase-and cathepsin -dependent emphysema. *J Clin Invest* 2000; 106: 1081-93.
23. MacNee W. Pulmonary and systemic oxidant/antioxidant imbalance in chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Am Thorac Soc* 2005; 2: 50-60.
24. Calikoglu M, Unlu A, Tamer L, et al. The levels of serum vitamin C, malonyldialdehyde and erythrocyte reduced glutathione in chronic obstructive pulmonary disease and in healthy smokers. *Clin Chem Lab Med* 2002; 40: 1028-31.
25. Cataldo D, Munaut C, Noel A, et al. Matrix metalloproteinases and TIMP-1 production by peripheral blood granulocytes from COPD patients and asthmatics. *Allergy* 2001; 56: 145-51.
26. Cataldo D, Munaut C, Noel A, et al. MMP-2- and MMP-9-linked gelatinolytic activity in the sputum from patients with asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Int Arch Allergy Immunol* 2000; 123: 259-67.
27. Lechapt-Zalcman E, Escudier E. Implication of extracellular matrix metalloproteinases the course of chronic inflammatory airway diseases. *Morphologie* 2000; 84: 45-9.
28. Ohbayashi H, Shimokata K. Matrix metalloproteinase-9 and airway remodeling in asthma. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy* 2005; 4: 177-81.
29. Lemjbar H, Gosset P, Lamblin C, et al. Contribution of 92 kDa gelatinase type 4 collagenase in bronchial inflammation during status asthmaticus. *Am Respir Crit Care Med* 1999; 159: 1298-307.
30. Lamblin C, Gosset P, Leblond I, et al. Bronchial neutrophilia in patients with noninfectious status asthmaticus. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 394-402.
31. Jatakanon A, Uasuf C, Maziak W, et al. Neutrophilic inflammation in severe persistent asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 1532-39.
32. Kumagai K, Onho I, Okado S, et al. Inhibition of matrix metalloproteinases prevents allergen-induced airway inflammation in a murine model of asthma. *The Journal of Immunology* 1999; 162: 4212-19.
33. Onho I, Ohtani H, Nitta Y, et al. Eosinophil as source of matrix metalloproteinase-9 in asthmatic airway inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997; 16: 212-15.
34. Vignola AM, Riccobono L, Mirabella A, et al. Sputum metalloproteinase-9/tissue inhibitor of metalloproteinase-1 ratio correlates with airflow obstruction in asthma and chronic bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 1945-50.
35. Ko FW, Diba C, Roth M, et al. A comparison of airway and serum matrix metalloproteinase-9 activity among normal subjects, asthmatic patients, and patients with asthmatic mucus hypersecretion. *Chest* 2005; 127: 1919-27.