



T.C.

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

YAYGIN DEĞİŞKEN İMMÜN YETMEZLİKTE OKSİDATİF STRES

Dr. Sevgen TANIR BAŞARANOĞLU

UZMANLIK TEZİ

BURSA – 2011



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

YAYGIN DEĞİŞKEN İMMÜN YETMEZLİKTE OKSİDATİF STRES

Dr. Sevgen TANIR BAŞARANOĞLU

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. S.Şebnem KILIÇ

BURSA-2011

İÇİNDEKİLER

Türkçe Özetii
İngilizce Özet iv
Giriş1
Gereç ve Yöntem26
Bulgular32
Tartışma ve Sonuç36
Kaynaklar43
Teşekkür51
Özgeçmiş52

ÖZET

Normal hücresel dengede reaktif oksijen radikali oluşumunun artması ve/veya antioksidan seviyelerinin azalması sonucu oluşacak değişiklikler oksidatif stres durumuna sebep olmaktadır. Bu durumun otoimmün hastalıklar, kronik inflamatuvar hastalıklar ve immün regülasyon bozukluğunun görüldüğü hastalıklara neden olduğu ileri sürülmektedir.

Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik (YDİY) antikor üretim problemi ve tekrarlayan enfeksiyonlarla karakterize; otoimmün, inflamatuvar ve immunoproliferatif komplikasyonların eşlik ettiği bir grup immünolojik bozukluktur. Bu çalışmada Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Pediatrik İmmunoloji Polikliniği'nde YDİY tanısı ile izlenmekte olan 21 hastada antioksidan belirteçlerden serum katalaz, eritrosit süperoksit dismutaz, eritrosit redükte glutatyon ve lipid peroksidasyon ürünü serum malondialdehid düzeyleri ile oksidatif stres durumunu değerlendirmeyi amaçladık.

Serum katalaz düzeyi median değeri sağlıklı kontrolde 56,52kU/L iken, hasta grubunda 34,78 kU/L bulundu ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi ($p<0.05$). Azalmış katalaz aktivitesi, persistan inflamasyonun söz konusu olduğu YDİY'li hastalarda artmış oksidatif stresin bir sonucu olarak değerlendirildi. Serum malondialdehid düzeyleri açısından hastalar ile kontrol grubu arasında anlamlı farklılık tespit edilmemekle birlikte p değeri sınırda (0.06) bulundu. Hastalar arasında enfeksiyon dışı komplikasyonu (uzun süreli lenfadenomegali, splenomegali, hepatomegali, granülom, sitopeni, otoimmün hastalık) olanlar ve olmayanların süperoksit dismutaz düzeyleri açısından yapılan karşılaştırmada komplikasyonları olan hastalarda süperoksit dismutaz düzeyi yüksek saptanmıştır ($p:0.05$). Yine otoimmün hastalığı olan (hastaların %19'u) ve olmayan hastaların karşılaştırmasında da katalaz aktivitesi otoimmün hastalığı olanlarda düşük saptanmıştır ($p:0.03$).

Sonuç olarak, YDİY'de immün regülasyon bozukluğunun patofizyolojisinde rol oynadığı düşünülen oksidatif stresin önemini ortaya koyacak daha fazla sayıda hasta ve belirtele değerlendirilmesi hastalığın eşlik eden komplikasyonlarının ve tedavinin yönetilmesi açısından fayda sağlayacaktır.

Anahtar kelimeler: Yaygın Değişken İmmn Yetmezlik, Oksidatif stres, Otoimmünite.

SUMMARY

Oxidative Stress in Common Variable Immunodeficiency

Alterations of the normal cellular balance, as a result of increase in reactive oxygen species and/or decrease in antioxidant defense, lead oxidative stress. This process ends up with autoimmune diseases, chronic inflammatory diseases and immune regulation defects.

Common Variable Immunodeficiency (CVID) is an immune defect, characterized by defective antibody production and recurrent infections and may be complicated with autoimmune, inflammatory and immunoproliferative conditions. We investigated the serum catalase, erythrocyte superoxide dismutase, erythrocyte reduced glutathione as antioxidants and serum malondialdehyde levels as lipid peroxidation marker in 21 CVID patients in Uludag University Faculty of Medicine Pediatric Immunology Outpatient Clinics.

Median sera catalase activity in healthy control group was 56,52kU/L whereas it was 34,78 kU/L in patient group, which was statistically significant ($p < 0.05$). Decreased catalase activity may represent increased oxidative stress in patients with persistent inflammation. Concerning the serum malondialdehyde levels there was not a statistically significant difference between patients and controls, though with a fine p value ($p: 0.06$). Among patients, comparison of the ones with non-infectious complications (persistent lymph nodes, splenomegaly, hepatomegaly, granuloma, cytopenia, autoimmune disease) with the ones without these complications resulted a significantly high superoxide dismutase activity in the complicated group ($p: 0.05$). Patients with autoimmune disease (19% of the patients) had significantly low catalase activity ($p: 0.03$).

In conclusion, influence of oxidative stress on pathogenesis of immune regulation defect in CVID should be evaluated with an extended

group of patients and oxidative stress markers. This would guide in treatment of the disease and in management of complications.

Key words: Common Variable Immunodeficiency, Oxidative stress, Autoimmunity.

GİRİŞ

Oksijen ve Serbest Radikaller

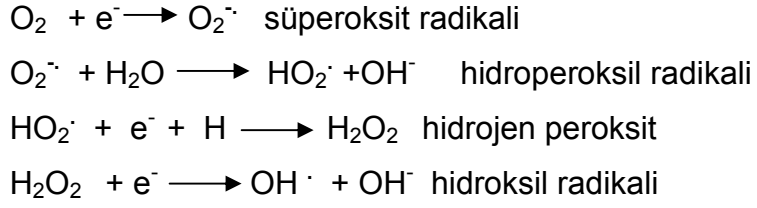
Oksijen enerji metabolizması ve solunum için zorunlu bir molekül olmakla birlikte aktive formu birçok hastalık ve dejeneratif durumların patogeneziyle ilişkili bulunmuştur.

Atmosferik oksijen bir biradikaldir yani iki adet çiftlenmemiş elektron içermektedir. Organik moleküllerle reaksiyona girebilmesi için “aktive” olması gerekmektedir. Oksijenin aktivasyonu iki şekilde olmaktadır.

1. Oksijen molekülünün paralel spinlerle dönen çiftlenmemiş elektronlarının zıt spinlerle dönmesini sağlayan enerji absorpsiyonu

2. Oksijen molekülüne tek elektron transferi yoluyla indirgenmesi (biyokimyasal reaksiyonlarda en sık gerçekleşen): Bu yolla süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil radikali gibi serbest oksijen radikalleri oluşur.

Reaktif oksijen radikalleri yüksek kimyasal reaktivite özelliğine sahip oksijen bazlı moleküllerdir. Serbest radikaller (süperoksid ve hidroksil radikalleri) ve radikal olmayan türleri (hidrojen peroksit) içerir. Bunlar bazal durumlarda bir dizi fizyolojik reaksiyon sonucu oluşabilen veya patolojik reaksiyonlar sonucu üretilerek her hücre bileşenine saldırarak doku hasarına sebep olabilen moleküllerdir (1). En dış yörüngesinde bir veya birden fazla eşleşmemiş elektron içerirler. Oksijenin tek değerlikli yolla indirgenmesi yoluyla veya enzimatik/enzimatik olmayan reaksiyonların sonucu olarak üretilirler. Oksijenin (O_2) bir elektron indirgenmesi sonucu süperoksit anyon radikali (O_2^-); iki elektron indirgenmesi sonucu hidrojen peroksit (H_2O_2) (tamamen protonlanmış form); üç elektron indirgenmesi sonucu hidroksil radikali ($OH\cdot$) oluşur.



Bunun dışında oksijeni daha reaktif süperoksit radikallerine çeviren bir dizi enzimatik/enzimatik olmayan reaksiyonlar da vardır. Hidrojen peroksit oksijenin urat-, D aminoasit- ve glikolat oksidazlar yoluyla divalen (iki değerlikli) indirgenmesi sonucu oluşabilir. Oksijenin tek değerlikli indirgenmesi sonucunda süperoksite dönüşmesi ve süperoksitin de süperoksit dismutaz enzimi yoluyla hidrojen peroksite dönüşmesi de buna başka bir örnektir.

Oksidatif Stres Tanımı

Prooksidan-antioksidan sistem dengesinin potansiyel hücre hasarına sebep olacak şekilde prooksidan sistem yönüne değişmesidir.

Hücre hasarına sebep olan oksidatif hasarın seyri her zaman belirgin ve açık değildir. Lipid membranlarda oksijen radikalleri ile gelişen hasarın mekanizması membran lipidlerinin peroksidatif reaksiyonları ile ilişkilidir.

Oksidatif stresin temel sonuçlarından biri nükleik asitler, lipidler ve proteinlere hasar vererek, bir takım reaktif ürünler oluşturmak ve bu yolla nekrozis ve apoptozise sebep olmaktır. Biomoleküllerin oksidatif hasarı kontrol edilmezse teorik olarak hastalık gelişimine neden olabilir. Nitekim, oksidatif stresin primer veya sekonder patofizyolojik mekanizmalarla çok sayıda akut ya da kronik hastalık gelişimine neden olduğuna dair kanıtlar vardır.

a) Serbest radikallerin lipidlere etkileri - Lipid Peroksidasyonu

Antioksidan enzim aktivitesini bozan stres veya diğer faktörler peroksidatif hasarın potansiyel olarak tehlikeli bir yolağını tetikleyebilir. Serbest radikallerle ortaya çıkarılan peroksidatif hasarın birçok hastalığın

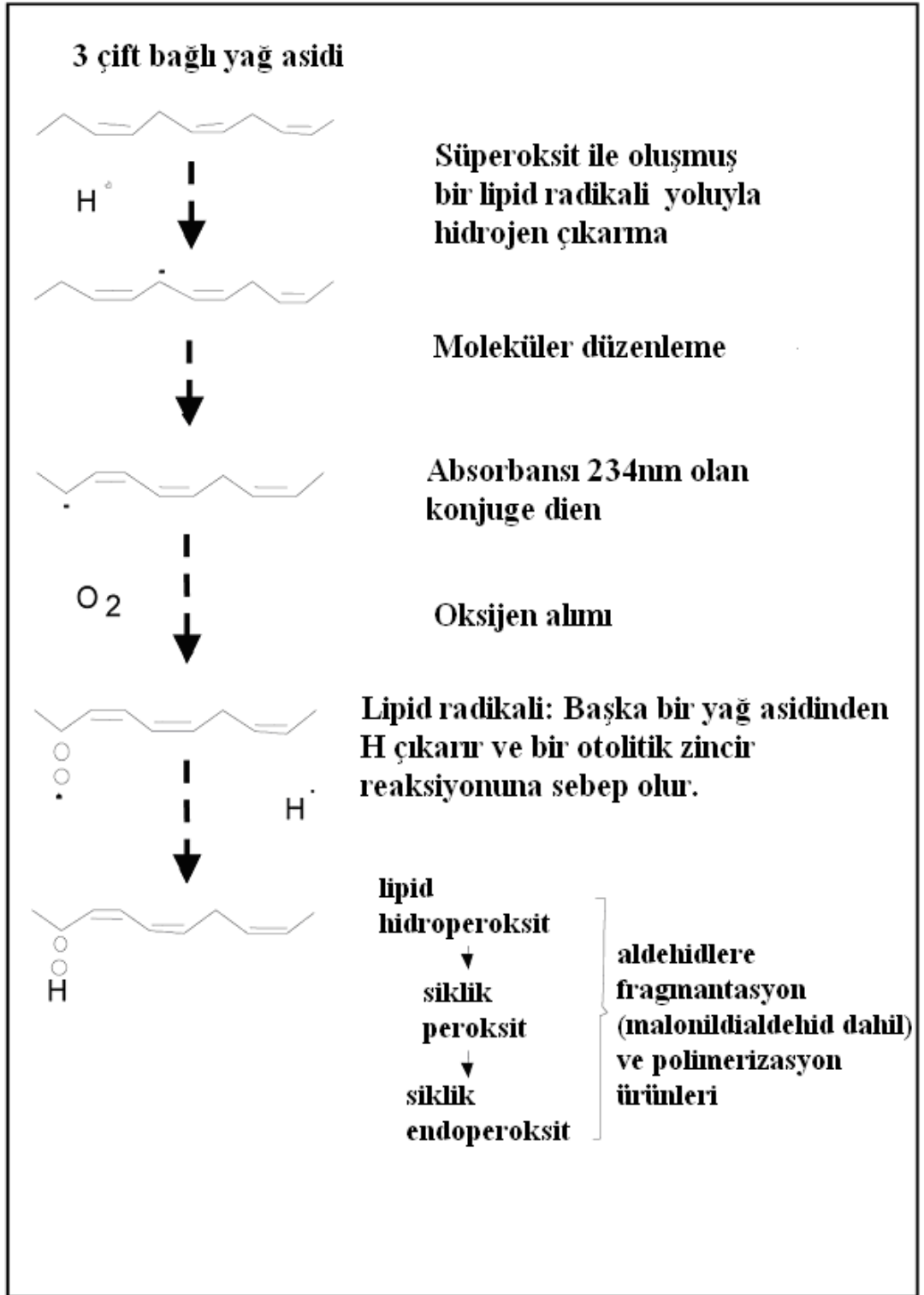
patogenezinde yer aldığı gösterilmiştir. Bu hastalıklar artmış lipid peroksidasyonu ile sonuçlanan artmış oksidatif stres ile ilişkilidir.

Lipid peroksidasyonu serbest radikallerle tetiklenen poliansature yağ asitlerinin oksidatif dejenerasyonu olarak tanımlanmaktadır (2). Lipidler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir (3). Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri oluştururlar.

Lipid Peroksidasyonunun Fazları

Lipid peroksidasyon fazları Şekil-1'de gösterilmiştir. Çoklu doymamış yağ asitleri hücre membranı ve LDL yapısında bol miktarda bulunurlar, hücre membranlarının akışkanlığını sağlarlar (4). Herhangi bir poliansature yağ asidinin oksidasyonu bir zincir reaksiyonudur ve 3 basamaktan oluşur: Başlangıç, ilerleme ve sonlanma. Başlangıç fazı: Reaktif oksijen ürünleri çoklu doymamış yağ asitlerindeki C-C çift bağını hedeflemektedir. C üzerindeki çift bağ C-H bağını zayıflatarak hidrojenin bir serbest radikal tarafından uzaklaştırılması kolaylaşmaktadır. Bir serbest radikal, çift bağdaki C ile ilişkili H'den tek bir elektron çalmaktadır. Sırasıyla bu C'un eşleşmemiş bir elektronu kalmasına ve bir serbest radikal olmasına yol açmaktadır. Karbon merkezli serbest radikalın stabilizasyonu için moleküler yeniden yapılanma gelişir. Yeni oluşan moleküle konjuge dien denir. İlerleme fazı: konjuge dien oksijenle kolayca reaksiyona girerek peroksiradikal oluşturabilir. Peroksiradikal bir başka lipid molekülünden elektron çalabilir. Bu olay bir zincir reaksiyonu olarak devam etmektedir. Konjuge dien poliansature yağ asitlerinin serbest radikaller ile hasarının bir ara ürünü olarak her bir zincir reaksiyonunun saptanmasında kullanılabilen peroksidatif hasarı iyi bir belirteçdir (5, 6). Peroksi radikalleri kendiliğinden stabil sonlanma fazı ürünlerine (lipid hidroperoksi, lipid peroksi) dönüşürler. Lipid LOOH (lipid hidroperoksi) ve lipid ROO- (lipid peroksi) radikalleri hücrenin birçok komponenti ile reaksiyona girerek toksik etkilerini gösterirler (7).

Lipid peroksidasyon prosesi bir dizi zararlı son ürünlere sebep olur (2, 8).



Şekil-1: Lipid peroksidasyonu (9).

Lipid peoksidasyonu, pro-oksidan/antioksidan dengesinin bozulması sonucu ortaya çıkan artmış oksidatif stresin bir sonucu olarak gerçekleşir ve oksijen toksisitesinde önemli bir patojenik noktadır. Bu etki, indirek olarak antioksidan enzimlerin veya askorbik asit, redukte glutatyon veya vitamin E gibi antioksidanların azalması sonucu görülür. Bunun yanında peroksidatif hasarın daha direk göstergeleri olarak artmış isoprostanlar(serbest radikaller tarafından oluşturulmuş prostaglandin izomerleri), 4-hidroksi-2-nonenal (membran lipidlerinin peroksidasyon ürünleri), 4-hidroksi-2-nonenal-modifiye proteinler, malondialdehid (lipid peroksidasyonunun son ürünü) veya malondialdehid-modifiye proteinler, protein bağlı akrolein ,serbest radikallerle modifiye olmuş DNA sayılabilir.

b) Serbest Radikallerin Proteinlere Etkileri

Proteinler serbest radikallere karşı poliansatüre yağ asitlerinden daha az hassastırlar.

Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme derecesi amino asit kompozisyonlarına bağlıdır. Doymamış bağ ve kükürt içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi amino asitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller oluşur.

Serbest radikallerin etkileri sonunda, yapılarında fazla sayıda disülfid bağı bulunan immünoglobülin G (IgG) ve albümin gibi proteinlerin tersiyer yapıları bozular, normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Prolin ve lizin reaktif oksijen türleri (ROS) üreten reaksiyonlara maruz kaldıklarında nonenzimatik hidroksilasyona uğrayabilirler. Hemoglobin gibi hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle oksihemoglobinin süperoksit radikali veya hidrojen peroksitle reaksiyonu methemoglobin oluşumuna neden olur. Enzimler protein yapısında olduklarından enzim aktivitelerinde de değişiklik meydana gelir (10).

c) Serbest Radikallerin Karbonhidratlara Etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu H₂O₂ peroksitler ve okzoaldehitler oluşabilir. Okzalaldehitler DNA, ribonükleik asit (RNA) ve

proteinlere bağlanarak antimitotik etki göstererek kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar (11).

d) Serbest Radikallerin Nükleik Asitler ve DNA'ya Etkileri

İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Hidroksil radikali deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit membranlardan kolayca geçerek ve hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne yol açabilir (12). Süperoksit maruz kalan DNA molekülleri hayvanlara enjekte edildiklerinde daha fazla antijenik özellik gösterirler ki bu oldukça önemli bir etkidir, çünkü otoimmün bir hastalık olan sistemik lupus eritematozusta (SLE) ve romatoid artrit (RA) dolaşımında bulunan anti-DNA antikorların oluşumunu açıklayabilecek bir hipotezdir.

Oksidatif hasarın hücresel elemanlara hasarının değerlendirilmesinde kullanılan bazı belirteçler Tablo-1'de verilmiştir.

Tablo-1: Oksidatif stresin biyolojik belirteçleri.

Lipid	Protein	DNA
Solunan havada etan ve pentan	Protein karbonil	Tek hücre jel elektroforez analizi
Tiobütirik asit maddeleri	reaktif Hidroperoksit	Timin glikol
Konjuge dien	Nitro-, kloro-, bromo-amino asit	5-hidroksi urasil
Hidroperoksit	Disülfid-SS-	2,8-hidroksi adenin
Aldehidler	-SOH, -SOOH, -SOOOH	8-hidroksiguanin
Keton	Aldehid modifiye proteinler	8-nitro-,kloro-,bromoguanin
İzoprostan	Hidroperoksit modifiye proteinler	
Nöroprostan	Çapraz bağlı proteinler	
Hidroksioktadekadienoik asit	Ditirozin	
Hidroksieikosatetraenoik asit	Albumin dimeri	
Lisofosfatidil kolin	Gelişmiş oksidasyon ürünleri	
Okside düşük dansiteli lipoprotein	Kreatol	
Oksisteroller	Miyeloperoksidaz Lipofuksin	

Antioksidan Savunma Sistemleri

Reaktif oksijen radikallerinin (ROS) oluşumunu kontrol eden veya düzeylerini düşüren antioksidan savunma sistemleri enzimatik (süperoksit dismutaz, katalaz, peroksidazlar) veya enzimatik olmayan (askorbik asit, redükte glutatyon, vitamin E) olarak ayrılır. Antioksidan sistem vasıtasıyla hücrel redoks (oksidasyon – reduksiyon) dengesi sağlanmış olur. Reaktif oksijen radikali oluşumunu artırarak ve/veya antioksidan seviyelerini azaltarak normal dengede oluşacak değişiklikler oksidatif stres durumuna sebep olarak serbest radikallerin membranlar ve moleküller ile reaksiyona girmesine neden olur.

Organizmada serbest radikallerin oluşumunu ve zararlı etkilerini engellemek için antioksidan savunma sistemleri mevcuttur.

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler.

1) Serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni moleküle çevirme **toplayıcı etkidir**. Antioksidan enzimler bu tip etki gösterirler.

2) Serbest oksijen radikallerine bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltma veya inaktif şekle dönüştürme **bastırıcı etkidir**. Vitaminler, flavanoidler bu tarz bir etkiye sahiptirler.

3) Serbest oksijen radikallerini bağlayarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etki **zincir kırıcı etkidir**. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler.

4) Serbest radikallerin oluşturdukları hasarın onarılması **onarıcı etkidir**.

Antioksidanlar endojen veya eksojen kaynaklı olabilirler (13).

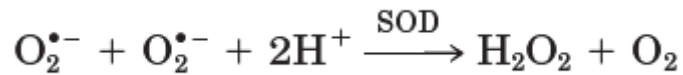
Endojen Antioksidanlar

Enzim ve enzim olmayanlar olarak iki grupta incelenirler.

a) Enzim Olan Endojen Antioksidanlar: Süperoksit dismutaz (SOD), Glutasyon peroksidaz (GSH-Px), Glutasyon S-Transferazlar (GST), Katalaz (CAT), Mitokondrial sitokrom oksidaz sistemi , Hidroperoksidaz

• Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz süperoksit radikal anyonunun ($\cdot O_2^-$) hidrojen peroksit (daha az reaktif) ve moleküler oksijene (O_2) dönüşümünü etkin bir şekilde katalizleyen antioksidan enzimdir.



SOD'ın fizyolojik fonksiyonu oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalinin lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır.

SOD tüm aerobik organizmalarda ve oksijeni aktive eden tüm alt hücre kompartmanlarında bulunması nedeniyle oksidatif strese karşı savunmanın merkezinde yer aldığı düşünülmektedir (14). Hücre dışı SOD ise

bakır ve çinko içeren, plazma, lenf ve sinovial sıvıda görev alan bir enzimdir. Bu enzimin düzenlenmesinin hücrelerin oksidan maddelere verdiği cevaptan çok sitokinlere bağlı olduğu gösterilmiştir (15). SOD'un inflamasyonla ilişkisi Babior ve ark. (16) tarafından ilk kez 1973'te tanımlanmıştır. Fagosit edici nötrofillerin çok miktarda süperoksit radikali ürettikleri, bunun bakterisidal aktivitenin bir parçası olduğu, inflamatuvar aktivite sonucunda gelişen doku hasarının bir ölçüde bu artmış nötrofil kaynaklı süperoksit radikali aktivitesi ile ilişkili olduğu ve SOD'un hücreleri ve ekstraselüler kompartmanları korumada önemli olduğu ileri sürülmüştür (17).

- **Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)**

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) sitozolde bulunur, 4 selenyum atomu içerir, tetramerik yapıdadır, lipid peroksidasyonunun başlamasını ve gelişmesini engelleyici özellikte olan bir enzimdir. Glutasyon peroksidaz, hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumludur.

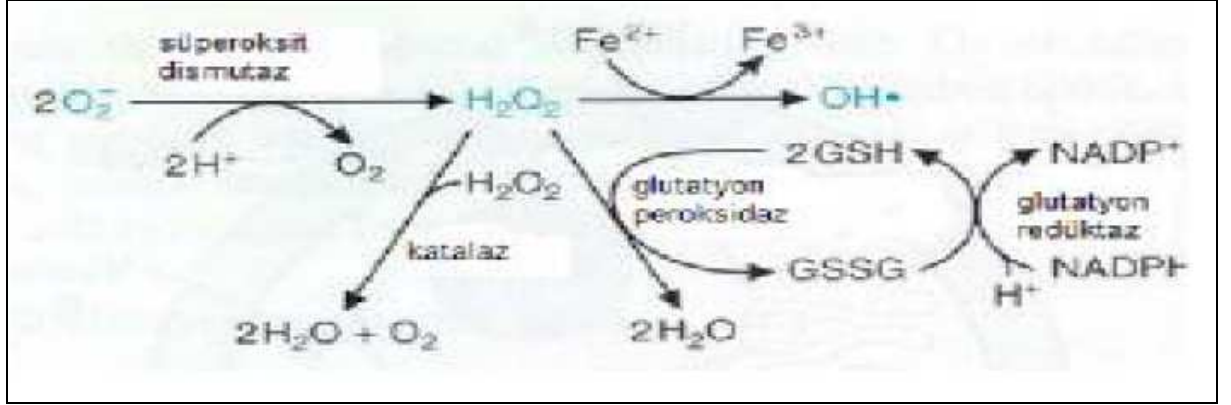


LOOH: Lipid hidroperoksit, GSH:Redükte glutasyon, GSSG:Okside glutasyon
H₂O₂: Hidrojen peroksit

GSH-Px'in fagositik hücrelerde de önemli fonksiyonları vardır. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini önler. Ayrıca eritrositlerde oksidatif strese karşı en etkili antioksidandır.

- **Glutasyon Redüktaz (GSSGR)**

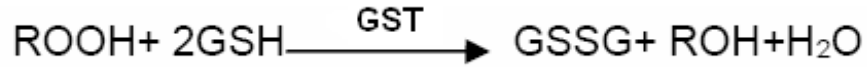
Glutasyon redüktaz, GSH-Px vasıtasıyla hidroperoksitlerin indirgenmesi sonucu oluşan okside glutasyonun (GSSG) tekrar redükte (indirgenmiş) glutatyona (GSH) dönüşümünü katalize eder. Reaksiyonun gerçekleşmesi için NADPH gereklidir (Şekil-2) (13).



Şekil-2: Glutatyonun indirgenmesi.

- **Glutatyon S-Transferazlar (GST)**

Her biri iki alt birimden oluşmuş bir enzim ailesidir. Glutatyon S-transferazlar (GST), başta araşidonik asit ve lineolat hidroperoksitleri olmak üzere lipid peroksitlerine karşı selenyum-bağımsız GSH-Px aktivitesi göstererek bir antioksidan savunma mekanizması oluştururlar.



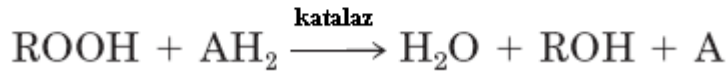
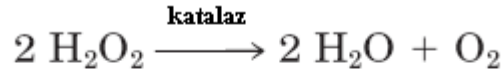
ROOH: Hidroperoksitler

Glutatyon S-transferazlar (GST) katalitik ve katalitik olmayan çok sayıda fonksiyon görürler. Bunlar hem detoksifikasyon yaparlar hem de hücre içi taşıyıcı ve taşıyıcı rolleri vardır. GST'ler, karaciğerde sitokrom P450 enzim sistemi tarafından reaktif ara ürünlere dönüştürülen yabancı maddelerin daha az reaktif konjugatlara dönüşümünü katalizlerler. Serum GST konsantrasyon ölçümünün aminotransferazlardan (AST ve ALT) daha duyarlı bir hepatosellüler hasar indeksi gösterdiği ileri sürülmüştür.

- **Katalaz**

Katalaz yapısında dört tane ferriprotoporfirin içeren bir tetramerik hemoproteindir. Oldukça etkili bir şekilde hidrojen peroksit (H_2O_2) ile reaksiyona girerek su ve moleküler oksijeni oluşturur. Hidrojen donörleri (metanol, etanol, formik asit, fenoller) ile reaksiyona girerek de peroksidaz aktivitesi gösterir. Katalaz esas olarak peroksizomlarda, daha az olarak da

sitozolde ve mikrozomal fraksiyonda bulunur. Katalaz hücrenin kendi içinde solunumsal patlama sonucu oluşan hidrojen peroksidi (H₂O₂) suya ve oksijene parçalayarak hücreyi korur. Hücrede oluşan hidrojen peroksidi (H₂O₂) hidroksil serbest radikali (OH•) oluşumunu önlemek için ortadan kaldırır.



ROOH:Hidroperoksitler

Her ne kadar katalaz bazı hücre tipleri için normal koşullarda zaruri olmasa da hücrelerin oksidatif strese adaptif cevabında büyük önem taşır. Yüzde 100 oksijen verilen farelerin hayatta kalma sürelerinin intravenöz olarak katalaz ve süperoksit dismutaz içeren liposomlar enjekte edildikten sonra belirgin şekilde arttığı tespit edilmiştir (18).

- **Mitokondriyal sitokrom oksidaz**

Mitokondriyal sitokrom oksidaz solunum zincirinin son enzimidir ve süperoksidi detoksifiye eder. Bu reaksiyon fizyolojik şartlarda sürekli meydana eden normal bir reaksiyondur, bu yolla yakıt maddelerinin oksidasyonu tamamlanır ve bol miktarda enerji üretimi (ATP) sağlanır. Ancak çoğu zaman süperoksit üretimi mitokondriyal sitokrom oksidaz enziminin kapasitesini aşar ve bu durumda diğer antioksidan enzimler devreye girerek süperoksidin zararlı etkilerine engel olurlar (19).

b) Enzim Olmayan Endojen Antioksidanlar: Askorbik asit, E vitamini, Melatonin, Seruloplazmin, Transferrin, Miyogloblin, Hemogloblin, Ferritin, Bilirubin, Glutasyon, Sistein, Metionin, Ürat, Laktoferrin, Albumin, Hemopeksin

- **Glutasyon (GSH)**

Glutasyon (L-γ-glutamil-Lsisteinilglisin) bir tripeptiddir. Üzerindeki protein olmayan sülfidril molekülü hem prokaryotlar hem de ökaryotlarda

bulunur ve antioksidan sistemin başlıca protein olmayan tiyol bileşenidir. Tüm memelilerde bulunan ve hemen hemen tüm oranlarda özellikle de karaciğerde üretilir (20). Glutasyonun temel görevi, hücre içeriğini normal metabolizma sırasında oluşan hidroperoksitlerin yıkıcı etkilerinden korumaktır. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünün engellenmesinde rol alır. Ayrıca proteinlerdeki sülfhidril (-SH) gruplarını redükte halde tutar ve bu grupları oksidasyona karşı korur, böylece fonksiyonel proteinlerin ve enzimlerin inaktivasyonunu engeller. Çoğunlukla redükte (GSH) formunda bulunur ve antitoksik, antioksidan özelliklerini bu formda gösterir. Yabancı bileşiklerin (ksenobiyotikler) detoksifikasyonunu ve idrar ve feçes ile merkaptürik asit formunda atılmalarını sağlar (21). Nükleik asitler ve proteinler gibi kritik hücresel elemanlarla elektrofilik veya okside edici moleküllerin etkileşimini engeller (21). Vitamin C ve E'nin rejenerasyonunda görev alır. Redükte glutasyon, okside/redükte glutasyon oranı, glutasyonil –hemoglobin oksidatif stres değerlendirmelerinde kullanılabilen belirteçlerdir. Okside/redükte glutasyon oranının oksidatif stres arttıkça arttığı tespit edilmiştir (22). Astım kliniğinin artmış okside glutasyon düzeyleri ile ilişkili olduğunu gösteren bulgular mevcuttur (23). Lang ve ark. (24) 21-89 yaş arası kanser, gastrointesinal, genitoüriner, kardiovasküler ve kas iskelet sistemine ait kronik hastalığı olanlarda redükte glutasyonun belirgin şekilde düşük düzeylerde olduğunu tespit etmiştir. Glutasyonun immün sistem ile ilişkisi ilerleyen bölümlerde tartışılacaktır.

- **C Vitamini (Askorbik Asit)**

Vitamin C (askorbik asit) organizmada birçok hidroksilasyon reaksiyonunda indirgeyici ajan olarak görev yapar. Askorbik asit, güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Süperoksit radikali ve hidroksil radikali (OH•) ile reaksiyona girerek onları ortamdaki temizler (25).

- **Vitamin E (c-tokoferol)**

Vitamin E (c-tokoferol) çok güçlü bir antioksidandır, hücre membran fosfolipidlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur. Vitamin E süperoksit ve hidroksil

radikallerini, singlet oksijeni, lipid peroksit radikallerini ve diğer radikalleri indirger (26). Vitamin E zincir kırıcı antioksidan olarak bilinir. Lipid peroksidasyonu zincir reaksiyonu, vitamin E vasıtasıyla sonlandırılabilir (27). Glutasyon peroksidaz ile vitamin E, serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. Glutasyon peroksidaz oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırırken vitamin E peroksitlerin sentezini engeller.

Vitamin E selenyum metabolizmasında da önemli rol oynar. Vitamin E selenyumun organizmadan kaybını önleyerek veya onu aktif şekilde tutarak selenyum ihtiyacını azaltır.

- **Karotenoidler**

Vitamin A'nın ön maddesi olan β -karotenin singlet oksijeni bastırabildiği, süperoksit radikalini temizlediği ve peroksit radikalleriyle direkt olarak etkileşerek antioksidan görev gördüğü saptanmıştır (28).

- **Melatonin**

Pineal bezden salınır. En zararlı serbest radikal olan hidroksil serbest radikalini ortadan kaldıran, günümüze kadar bilinen antioksidanların en güçlüsü olarak kabul edilmektedir (28). Lipofilik olması sayesinde, hücrenin hemen bütün organellerine ve hücre çekirdeğine ulaşabilir ve böylece çok geniş bir dağılımda antioksidan aktivite gösterir. Yaşlanma ile birlikte melatonin üretimi de azalır ki bunun da yaşlanma ve yaşlanmaya bağlı hastalıkların patogenezinde önemli rolü olabileceği kaydedilmiştir.

- **Ürat**

Normal plazma konsantrasyonunda ürat, hidroksil, süperoksit, peroksit radikalleri ve singlet oksijeni temizler. Fakat lipid radikalleri üzerine etkisi yoktur. Ayrıca vitamin C oksidasyonunu engelleyici etkisi vardır.

- **Bilirubin**

Bilirubin, süperoksit ve hidroksil radikali toplayıcısıdır

- **Albümin**

Albümin lipid hidroperoksid ve HOCl toplayıcısıdır.

- **Ferritin**

Ferritin dokudaki demiri bağlar.

- **Transferrin ve Laktoferrin**

Transferrin ve laktoferrin dolaşımdaki serbest demiri bağlarlar (29).

Ekzojen Antioksidanlar

- **Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopurinol, oksipurinol)**

Oksipurinol allopürinolün metabolitidir, doğrudan hidroksil radikali ve hipokloriti azaltıcı yönde etki eder.

- **Demir şelatörleri**

Demir şelatörleri hücre içine girerek serbest demiri bağlayarak etkisizleştirirler, böylece Fenton reaksiyonunu ve sonuçta hidroksil radikali oluşumunu inhibe ederler. Bu özelliklerinden dolayı reperfüzyonda kullanılmalarının faydalı olduğu kaydedilmiştir.

- **Mannitol**

Hidroksil radikalini toplayıcı özelliği vardır.

- **NADPH oksidaz inhibitörler**

Adenozin, lokal anestezipler, kalsiyum kanal blokerleri, non-steroid antiinflatuar ilaçlar

- **Rekombinant Süperoksit Dismutaz (r-SOD)**

- **Besinlerdeki doğal antioksidanlar**

A, C,E vitamini, folik asit ve β karoten

- **Nötrofil adezyon inhibitörleri**

- **Asetilsistein**

GSH-Px aktivitesini arttırarak endojen antioksidan sisteme katkıda bulunur.

- **Melatonin**

Oksidatif stresin değerlendirilmesinde kullanılabilecek bazı antioksidan belirteçler Tablo-2'de verilmiştir.

Tablo-2: Oksidatif stresin biyolojik belirteçleri olarak antioksidanlar.

1. Antioksidan bileşik düzeyi: Antioksidan vitaminler, Total antioksidan kapasite
2. Antioksidan enzim düzeyi: Süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glutatyon-S-transferaz
3. Antioksidanın oksidasyon ürünü : Tokoferil kinon(TQ), 5-nitro-gamma-tokoferol, allantoin, biopirin
4. Okside formların redükte formlara oranı: Glutatyon disülfid(GSSG)/Glutatyon(GSH), TQ/TQH ₂ (tokoferil hidrokinon), Ubikinon(UQ)/ubikinol(UQH ₂)

Oksidatif Stres, İmmün Sistem ve Otoimmünite

Birçok hastalığın kendi-toleransın bozulduğu otoimmün mekanizmaları olduğu bilinmektedir. Otoimmün hastalıklar organ spesifik olsun, sistemik olsun devam eden bir kronik inflamasyon zemininde ortaya çıkarlar. İnflamatuar reaksiyonlar özellikle de kronik olanlar oksidatif hasarın önemli bir kaynağı olabilir. Aktive makrofajlar ve nötrofiller bir dizi reaktif oksijen radikali salgılayarak yanındaki hücrelerde DNA hasarına sebep olabilir (30). Oksijen metabolizması tüm hücre tiplerinde reaktif oksijen radikalleri oluşumuna sebep olabilir. Reaktif oksijen radikallerinin yararlı ve zararlı çift yönlü etkileri iyi bir şekilde tanımlanmıştır. Aşırı üretilen reaktif oksijen radikalleri oksidatif strese sebep olarak lipid, protein ve DNA gibi yapılara zarar verebilir. Bunun tersine reaktif oksijen radikallerinin az veya orta konsantrasyonlarda üretimi yararlı etkiler göstererek enfeksiyon ajanlarına karşı savunma, hücre içi sinyalizasyonunun sağlanması, mitojenik cevabın indüklenmesi gibi fizyolojik hücresel cevabın yerine getirilmesini sağlar. Lenfositler ve diğer immün sistem hücreleri dahil tüm hücre tipleri antioksidan bileşikleri ve enzimleri (süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutaredoksin, tioredoksin gibi...) içeren karmaşık bir sisteme sahiptir (31, 32). Reaktif oksijen radikalleri immün sistem hücreleri içinde kinazlar, fosfatazlar ve transkripsiyon faktörlerinin geri dönüşümlü aktivasyonu, kritik tiyol rezidülerinin modifikasyonu gibi rollerle önemli sinyal molekülleri olarak görev yapar. Kural olarak oksidatif dengesizlik immün sistem disfonksiyonu ile ilişkilendirilmiş, bunun tersi olarak antioksidan

sistemlerin de anti-inflamatuar ve/veya anti-immünsupresif özelliklerle bağlantılı olduğu bulunmuştur. İmmün sistem hücreleri “toksik maddeleri” ile kendi komşu dokularına zarar vererek oksidatif hasara ve inflamasyona sebep olabilir. Hem enzimatik serbest radikal savunma sistemleri (SOD, katalaz, peroksidazlar) hem de enzimatik olmayan antioksidan moleküller oksidan hasara karşı nöbetçi görevi görmekte ve doğal veya sentetik antiokside edici ajanlar lenfosit ve inflamatuvar hücre fonksiyonlarını düzenleyici etki göstermektedir (33, 34).

Reaktif hücre radikalleri ve hücrenin kaderi arasında direk bağlantı vardır. Oksidatif stresin immün sistem hücreleri de dahil olmak üzere tüm hücrelerde bir dizi moleküler değişiklikler gerçekleştirerek apoptozis ve nekroza sebep olduğu bilinmektedir (35). Apoptozis, programlanmış hücre ölümü, serbest radikal oluşumu ile ilişkilidir. Reaktif oksijen radikalleri protein fosfatazlar, protein kinazlar, transkripsiyon faktörleri gibi bir dizi sinyal moleküllerini modifiye etmek suretiyle apoptozisle sonlanan yolları aktifleştirmektedir. Redoks durumunun hücreleri çoğalmaya mı yoksa ölüme mi yönlendireceğini belirleyen mekanizmalar halen açıklanamamıştır. İmmün sistem hücrelerinin apoptozise gitmeleri için “ölüm reseptörüne bağlanma” (death receptor ligation) yolunun veya mitokondride apoptojenik yolların aktifleşmesi gerekir. Lenfosit aktivasyonu sonrası mitokondrial membran potansiyallerinde belirgin değişiklikler olduğu ileri sürülmektedir. Özellikle mitokondrinin hiperpolarize durumunun ki, bu mitokondrilerin apoptozise yönelmelerinin birinci şartıdır, IL2 (interlökin 2) ile indüklenen aktivasyonla ilişkili olduğu bildirilmiştir (36). Otoimmün hastalıkları olan hastaların mitokondrilerinde de bu hiperpolarizasyon görülmüş ve T hücre yaşamının, ölümünün ve otoimmüitenin ana kontrol noktasının mitokondrial hiperpolarizasyon olduğu ileri sürülmüştür (37). Bununla ilişkili olarak antioksidanlar gibi bazı ilaçların mitokondrial homeostazı düzenledikleri düşünülmüştür (38). Tüm bunlara ek olarak, hiperpolarize mitokondrilerin sadece aktive T lenfositlerinde görülürken istirahat halindeki T lenfositlerde gözlenmedikleri bildirilmiş, bunun otoimmün hastalıklar gibi T hücre homeostazı bozuk olan hastalıklarda patogenetik bir rolü olduğu iddia

edilmiştir (39, 40). Reaktif oksijen radikallerinin ana kaynağı mitokondri olduğu göz önünde bulundurulduğunda, immün sistem bütünlüğü ve fonksiyonları ile ilgili bozuklukların hücre homeostazında değişiklikler ve mitokondri ile ilişkili apoptozisle bağlantılı olduğu düşünülebilir. Bunun yanında apoptozis anormal antijen (özellikle de daha önce işlenmiş antijenlerin) sunumuna sebep olabilir. Apoptotik hücreler monosit-makrofaj sistemi tarafından etkin şekilde temizlenemezse otoimmüniteyi indükleyecek potansiyel antijen kaynağı haline gelebilir. Nitekim romatoid artrit gibi kronik inflamatuvar hastalıklarda artmış oksidatif stres T lenfosit büyüme ve ölüm uyarılarına dirençli hale getirmekte, bu da immün cevabın uygunsuz şekilde devamına sebep olmaktadır (41). Sistemik lupus eritematosusda da anormal T hücre aktivasyonu ve ölümünün mitokondrideki reaktif oksijen radikalleri ve ATP oluşumu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (42).

Otoimmün hastalıkların patogeneğinde hücrel redoks durumunun ilişkisi birçok çalışmada gösterilmiştir. Reaktif oksijen radikalleri proinflamatuvar sitokinler, adhezyon molekülleri ve hücre siklus ilişkili genlerin fizyolojik aktivatörleridir. Bu sebeple otoimmün hastalıkların patogeneğinde, komplikasyonlarında ve hastalık şiddetinde reaktif oksijen radikalleri önemli yer alabilir. Bunun yanında daha önce belirtildiği gibi reaktif oksijen radikalleri otoimmünitede anahtar bir nokta olan apoptozis gelişiminde de rol almaktadır (43). Protein peroksidasyonu proteinin fonksiyonunu bozacak şekilde yapısında değişikliklere neden olmakta bu da neo-antijen oluşumuna kaynak sağlamaktadır (44). Reaktif oksijen radikalleri doku hasarına neden olarak demir iyonlarının veya demir içeren bileşiklerin (hem gibi) protein bağlı durumundan ayrılarak prooksidan aktivite göstermelerine sebep olurlar. Bu yolla bazı antikolar hem geçiş metal iyonları hem de reaktif oksijen radikallerine maruz kalarak birçok otoantijen için yeni antijen bağlanma noktaları oluştururlar (45). Bunların hepsi immün reaksiyonları alevlendirerek otoimmüniteye sebep olabilir. Tüm bunların yanında otoimmünite de redoks dengesinin bozulmasında etkili olabilir. Antioksidan enzimlere karşı antikolar prooksidan-antioksidan dengesini bozarak oksidatif strese sebep olabilir. Bu, oksidatif olarak modifiye olmuş otoantijenlerin neo-antijen görevi görerek

kendi-toleransın bozulmasında rol almasını açıklamaktadır (46). Modifiye otoantijenlerle immünizasyon epitop yayılması ve hastalığın indüksiyonunu hızlandırmaktadır. Tüm bu bulgular otoimmün hastalıklarla oksidatif dengenin yakından ilişkili olduğunu göstermektedir (Tablo-3).

Tablo-3: Otoimmün hastalıklar ve oksidatif stres ilişkisine dair literatür.

Otoimmün hastalık	İlişkili reaktif oksijen radikali	Referans
Otoimmün tiroidit	Malondialdehid	Baskol ve ark. 2007
Sistemik lupus eritematozus	Süperoksit anyonu	Alves ve ark. 2008
Sistemik sklerosis	H ₂ O ₂	Servettaz ve ark. 2007
Romatoid artrit	Süperoksit anyonu	Cedergren ve ark. 2007
Multipl sklerosis	Süperoksit anyonu	Ghfourifar ve ark. 2008
Behçet hastalığı	Malondialdehid Miyeloperoksidaz	Yardım –Akaydın ve ark. 2006
Tip 1 diabetes mellitus	Süperoksit anyonu	Suys ve ark. 2007

Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik

Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik (YDİY) antikor üretim bozukluğu ve tekrarlayan bakteriyel sinopulmoner enfeksiyonlarla karakterize en sık primer immün yetmezlik hastalıklarında biridir. Heterojen bir grup immünolojik bozukluktur ve genetik orijini tam olarak bilinmemektedir. Sıklığı 1:30000 olarak bildirilmektedir. Erkek ve kadın eşit olarak etkilenmektedir. Hastalığın olağan başlangıç yaşı ikinci veya üçüncü dekadır, bunun yanında çocukluk çağında 1-5 yaşta ve 16-20 yaşlarında pikler yaptığını bildiren yayınlar da vardır. Hastaların serum immünoglobulin G ve A düzeyleri belirgin olarak düşük, yarısında da immünoglobulin M düşüklüğü bulunmaktadır. Tanı esas olarak diğer antikor yapım defektine neden olan genetik defektlerin (*Btk*, *CD40L*, *CD40*, *BLNK*, *AID*, *UNG*, *APCS*, *XIAP*, μ zincir, lambda 5 vs.) dışlanması ile konmaktadır (47). YDİY tanısı için aşağıdaki kriterler önerilmektedir (48).

- 4 yaş üzeri
- Serum IgG düzeyinin erişkinde <4.5g/l veya yaşa göre 2,5 persentilin altı olması, serum IgA düzeyinin yaşa göre normalin alt sınırının altında olması, alternatif olarak serum IgM düzeyinin yaşa göre normalin alt sınırının altında olması
- Aşılama veya antijenle karşılaşma sonrası protein antijenlerine (difteri, tetanoz, pertusis, Hib konjuge aşısı gibi) karşı en az iki değerlendirmede ciddi antikor yanıtı eksikliği

- Diğer immünoglobulin yapım defektlerinin ekarte edilmesi.

Yapılan birçok çalışma YDİY'li hastaların immünolojik bozukluğunun B hücresi ile sınırlı olmadığını; T hücreleri ve monosit-makrofajların da bu hastalıkta rol üstlendiğini, muhtemelen antijen sunumunda ve B hücre yardımında bir bozukluk olduğunu göstermiştir. Aydınlatılmış defektler aşağıda özetlenmiştir.

YDİY hastalarında B hücre sayısı oldukça değişkendir (49). Yüzde 54'ünde normal sayıda B hücreleri varken, %12'sinde azalmış sayıda, %24'ünde artmış sayıda, %12'sinde hiç yoktur. YDİY'de esas ve ortak immünolojik defekt B lenfositlerin değişik immünoglobulin izotiplerini üretmek üzere plazma hücrelerine farklılaşamamasıdır. B hücre farklılaşmasında rol oynayan yardımcı reseptörler olan CD27 ve CD134 ligandın ekspresyonunda defektler vardır (50). Son zamanlarda tespit edilen genetik defektler primer B lenfosit disfonksiyonunu düşündürmektedir. Bunlar:

- CD19 eksikliği (antijenik uyarı sonrası sinyal iletiminde görevli) (51),
- TACI proteinini kodlayan gende mutasyon (Transmembran aktivatörü ve Ca-modülatörü ve siklofilin ligand: İzotip dönüşümünde, B lenfositlerin terminal farklılaşmasında ve T lenfosit bağımsız antikor cevabı oluşumunda görevli) (52),
- ICOS defekti (Aktive T hücrelerinin indüklenebilir co-stimülatörü: Sınıf dönüşümüne uğramış bellek B hücrelerinin azalmasına neden olur) (53),

- BAFF ve BAFF-R eksikliği (Tümör nekrozis faktör reseptör ailesinden olan B-hücre aktive edici faktörü veya reseptörü: sınıf dönüşümünde görevli) (51).

YDİY'li bazı hastalarda L-Selektin, atraktin, CD40 ligandı gibi adezyonda rol oynayan hücre yüzeyi moleküllerinin ekspresyonu azalmıştır. Aktive CD4+ lenfositlerce eksprese edilen CD40 ligandının B hücre proliferasyonu, farklılaşması ve izotip dönüşümünde önemli görevleri vardır. YDİY'lilerin önemli bir kısmında CD40L mRNA'sı ve fonksiyonel CD49L protein ekspresyonu anlamlı derecede azalmıştır. Bu da yetersiz sinyal iletimini ya da bozulmuş aktivasyonu düşündürmektedir (54-56). YDİY'li hastaların B hücrelerinin anti-CD40 ve IL-4 varlığında in vitro kültürlerinde çoğalma ve IgE sentezlerinin normal olduğu görülmüştür. Bu durum YDİY'lilerin çoğunun B lenfositlerinin normal bir fonksiyona sahip olabileceği hipotezini desteklemektedir (57).

YDİY'li hastalarda T lenfosit sayıları normal olup fonksiyon bozuklukları hastaların % 60'ında mevcuttur (58-60) Hastaların bir kısmında (%25-30) CD8+ lenfositlerde artışa ikincil tersine dönmüş CD4+/CD8+ oranına rastlanır (61,62). Antijen spesifik T hücrelerinin eksikliği önemli bir bulgudur (63). Bir kısım hastada monosit/makrofaj defektleri görülmektedir. Kanda ve kültür ortamında artan IL-6 konsantrasyonu genelde monosit orijinlidir. Ayrıca daha fazla sayıda lipopolisakkarit ile stimüle edilmiş CD14+ monositler IL-12'yi intrasellüler olarak eksprese ederler. Bu dengesizlik immün cevabı antikor üretiminden uzaklaştırır ve bu da YDİY'deki T hücrelerinin antijen spesifik bellek hücreleri oluşturamamasını açıklayabilir. Monosit aktivasyonu kronik inflamasyon ve granülomatöz reaksiyonlarda rol oynar (64-66).

Hastaların büyük çoğunluğu sporadik vakalar iken değişken geçişli otozomal dominant, otozomal resesif ve X'e bağlı geçen vakalar da bildirilmiştir.

YDİY hastalarının kliniği tekrarlayan enfeksiyonlar ve bunlara bağlı komplikasyonlar ve enfeksiyöz olmayan komplikasyonlar (otoimmün/

inflamatuvar/immünoproliferatif komplikasyonlar ve malignite) olarak özetlenebilir.

Tekrarlayan enfeksiyonlar: Tekrarlayan piyojenik üst ve alt solunum yolu enfeksiyonları çocukluk döneminde başlayan en sık semptomlardır. En sık etkenler *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae* ve *Staphylococcus aureus* tür. YDİY hastalarında tekrarlayan ciddi enfeksiyonları bronşiektazi ile ilişkili bulunmuştur (49, 67). YDİY hastaların belli organizmalarla enfeksiyona karşı yatkınlığı tespit edilmiştir. *Ureaplasma urealyticum* ile rekürren idrar yolu enfeksiyonları fibrotik mesaneye sebep olmaktadır (68). Mycoplasma türleri ile enfeksiyon ciddi eklem ve bronşial hasara sebep olabilmektedir (69, 70). Bazı hastaların enteroviral enfeksiyonlar sonucunda kronik meningoensefalit ve dermatomyozit geliştirdiği bildirilmiştir. Gastrointestinal Giardia enfeksiyonlarına bağlı malabsorbsiyon ve persistan diare olguları görülmektedir (71).

Lenfoid hiperplazi ve granulomatöz hastalıklar: Hastaların 1/3'ünde B veya T lenfositlerin klonal artışına bağlı olarak atipik lenfoid hiperplazi görülmektedir. Lenf nodlarında reaktif foliküler hiperplazi, atipik hiperplazi veya granulomatöz inflamasyon görülürken, ektranodal olarak akciğer, gastrointestinal sistem, deri, dalak, karaciğer ve parotiroid bez tutulumu görülebilir. Akciğerlerin yoğun T lenfositler, plazma hücreleri, immünoblastlar ve makrofajlarla diffüz interstiyel infiltrasyonu sonucu "lenfositik interstiyel akciğer hastalığı" ve B lenfosit ağırlıklı reaktif lenfoid foliküllerin havayolları çevresinde toplanması sonucunda da "foliküler bronşit/bronşiolit" tanımlanmıştır. Bu hastalarda öksürük, dispne ve restriktif akciğer bulguları mevcut olup yüksek mortalite le birlikte. Etyoloji bilinmemekle birlikte pulmoner lenfoid foliküllerin kronik antijenik stimülasyon sonucu gelişmiş olabileceği düşünülmektedir (72).

YDİY hastalarının bir diğer inflamatuvar bulgusu multisistem granuloma varlığıdır. İnsidansı %5,4-10 arasında değişmektedir. Etyoloji bilinmemekle birlikte persistan bir viral veya diğer enfeksiyöz etiyolojiye karşı azalmış hücresel immünite ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu duruma

sıklıkla lenfoid interstisyel pnömonit veya persistan açıklanamayan lenfadenopati de eşlik etmektedir. Herhangi bir enfeksiyon, kendisi kontrol altına alındıktan sonra da devam eden inflamatuvar bir süreci tetikleyerek multisistem granulomlara sebep olabilir. Klasik sarkoidozun granulomlarından farksız patolojik ve klinik özellikleri vardır ve bu hastalarda enfeksiyon, splenomegali, iridosiklit, otoimmün hemolitik anemi, ve immün trombositopenik purpura daha sık birliktelik göstermektedir (73-75). YDİY hastalarının bir grubunda patolojisi Çölyak hastalığına benzerlik gösteren, gluten ile ilişkisiz, gastrointestinal inflamatuvar bir komplikasyon olarak idiopatik enteropati görülebilmektedir (76). Gastrointestinal sistemi infiltre eden lenfositler sıklıkla T hücrelerdir ve her zaman otoimmün etiyojijiy desteklemeyen bulgular vardır.

Malignite:YDİY hastalarının %2-8'inde çoğunlukla 6.ve 7. dekatta olmak üzere non-Hodgkin lenfoma gözlenmektedir. Hemen her zaman ektranodal mukozal yerleşimli ve iyi differansiye B hücre tipindedir (77). Lenfoma gelişimi, lenfoid hiperplazi ve granulomlar ve BCL6 gen mutasyonları ile ilişkili bulunmuştur (78, 79). Gastrik karsinoma, kolon, meme, prostat, ovaryan, oral kanserler ve melanoma da sık görülen malignitelerdir.

Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik ve Otoimmünite

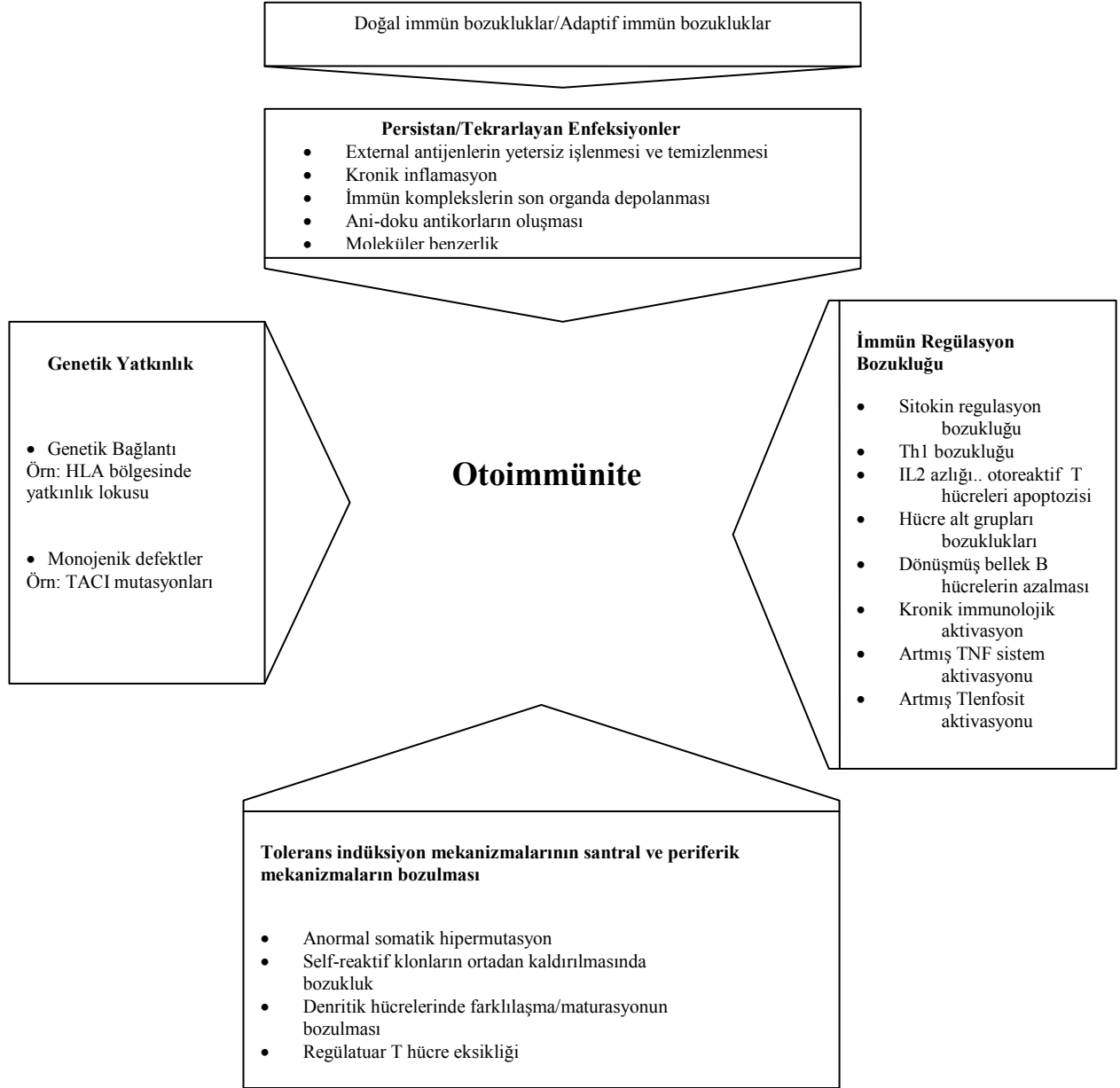
YDİY hastaların değerlendirildiği bir çalışmada 248 hastanın 52'sinde (%21) otoimmün hastalık bulunmuştur (58). Daha yüksek sıklık bildiren %28 (80) ve %50 gibi (81) çalışmalar da mevcuttur. Birçok seride en sık karşılaşılan otoimmün hastalıklar; otoimmün sitopeniler özellikle immüntrombositopenik purpura ve otoimmün hemolitik anemi olarak bildirilmiştir (82). Otoimmün sitopenilerin sıklığı %5-8 olarak bildirilmiştir (58). Çalışmalarda eşlik eden lenfopeni ve otoimmün nötropeni de bildirilmektedir (83). Hastalığın ilk bulgusu olarak otoimmün sitopeniler görülebilir. YDİY hastaların %10-30'unda romatoid artrit benzer aseptik poliartiküler artrit gözlenmektedir (84). Simetrik eklem tutulumu ve daha çok diz, ayak bileği ve

ellerde tutulum ile seyreden otoimmün artrit destrüktif değildir. Romatoid faktör ve antinükleer antikorlar negatiftir. YDİY hastalarında pernisiyöz anemi, inflamatuvar barsak hastalığı, juvenil romatoid artrit, primer bilier siroz, alopesi totalis, sistemik lupus eritematosus benzeri sendrom, vaskülit, insülin bağımlı diabetes mellitus, Çölyak hastalığı, Guillain Barre sendromu, myastenia gravis, otoimmün tiroidit, sicca sendromu ve dermatomyozit de bildirilen diğer otoimmün hastalıklardır. Otoimmün fenomen kadın hastalarda (%61) daha sık görülür (58).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar B hücre fenotipine göre YDİY hastalarının gruplandırılmasına yöneliktir. Warnatz ve ark. (82) tarafından yapılan bir çalışmada bir grup YDİY hastanın sınıf dönüşümü yapmış bellek B hücrelerinin (CD27+IgM-IgD-) %0,4'den az oldukları ve bu grup içerisinde CD21(-) olanların da istatistiksel olarak anlamlı derecede otoimmün sitopeni ve splenomegali ile seyrettikleri gösterilmiştir. Başka bir çalışmada az sayıda bellek hücresi splenomegali ve granümatöz hastalıkla ilişkili bulunmuş, karşılık olarak immatür B hücrelerinin sayısındaki artışın otoantikor üretimi ve otoimmün hastalık gelişimine yatkınlığa neden olabileceği ileri sürülmüştür (85). YDİY hastaların diğer aile bireylerinde otoimmün hastalıkların görülmesi genetik zemini de akla getirmektedir. Spesifik bir TNF(Tumor Necrosis Factor) alleli ,+488, bir grup YDİY hastada splenomegali ve granümatöz hastalıkla ilişkili bulunmuştur (74). Mannoza bağlayıcı lektinin spesifik bir alleli, YDİY ve otoimmün hastalıkla ilişkili bulunmuştur (86).

YDİY'li hastalarda oksidatif stres özellikleri kısıtlı sayıda çalışma ile değerlendirilmiştir. Birçok inflamatuvar/immün-aracılı hastalığın patogeneğinde yer aldığı ileri sürülen redükte glutatyon düzeylerinde azalma, persistan immün aktivasyonu, splenomegalisi ve CD4+ lenfopenisi olan bir grup YDİY'li hastada gözlemlenmiştir (87). Aynı hasta grubunda önemli prooksidan etkileri olduğu bilinen homosistein ve redükte sisteinilglisin, artmış oksidatif stresin göstergesi olarak anlamlı şekilde yüksek saptanırken; plazma malondialdehid yüksek, plazma beta karoten ve vitamin E düzeyleri düşük bulunmuştur (88). Yine Aukrust ve ark. (89) tarafından YDİY'li hastalarda monositlerde reaktif oksijen radikali üretimi artmış olarak

bulunmuş, “monosit/makrofaj hiperaktivitesi ve kronik immün aktivasyonla” uyumlu olarak değerlendirilmiştir. YDİY ile otoimmünite arasındaki ilişki Şekil-3’te özetlenmiştir.



Şekil-3: YDİY-Otoimmünite ilişkisinde muhtemel mekanizmalar.

Özet olarak, oksidatif stres prooksidan-antioksidan sistem dengesinin potansiyel hücre hasarına sebep olacak şekilde prooksidan sistem yönüne değişmesidir. Aşırı üretilen reaktif oksijen radikalleri oksidatif strese sebep olarak lipid, protein ve DNA gibi yapılara zarar verebilir ve bu yolla nekrozis ve apoptozise sebep olmaktadır. Oksidatif stresin primer veya sekonder patofizyolojik mekanizmalarla çok sayıda akut ya da kronik hastalık gelişimine neden olduğuna dair kanıtlar vardır. Artmış oksidatif stres otoimmünite ve immün yetmezlik patogenezinde önemli olabilir. Otoimmün hastalıkların (sistemik lupus eritematozus, romatoid artrit, Behçet hastalığı gibi) patogenezinde hücrel redoks durumunun ilişkisi birçok çalışmada gösterilmiştir. Reaktif oksijen radikalleri proinflamatuvar sitokinler, adhezyon molekülleri ve hücre siklus ilişkili genlerin fizyolojik aktivatörleridir. Bu sebeple otoimmün hastalıkların patogenezinde, komplikasyonlarında ve hastalık şiddetinde reaktif oksijen radikalleri önemli yer alabilir. Bunun yanında reaktif oksijen radikalleri otoimmünitede anahtar bir nokta olan apoptozis gelişiminde de rol almaktadır.

Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik (YDİY) antikor üretim bozukluğu ve tekrarlayan bakteriyel sinopulmoner enfeksiyonlarla karakterize en sık primer immün yetmezlik hastalıklarında biridir. Heterojen bir grup immünolojik bozukluktur. Hastalığın kliniğinde akut veya kronik piyojenik enfeksiyonlara bağlı komplikasyonların yanında enfeksiyöz olmayan komplikasyonlar olarak otoimmün, inflamatuvar, immünoproliferatif patolojiler de sıklıkla görülmektedir. İmmün regülasyon bozukluğu, persistan immün aktivasyon ve sonucunda otoreaktivitenin gözleendiği bu heterojen hastalıkta oksidatif stresin yerine dair çalışmalar oldukça kısıtlı sayıdadır.

İmmün sistem disfonksiyonu ile oksidatif dengesizliğin ilişkilendirilmiş olması; antioksidan sistemlerin anti-inflamatuvar ve/veya anti-immünsupresif mekanizmalarla bağlantılı olmasından dolayı YDİY'li hastalarımızda oksidatif stresin bazı belirteçlerini değerlendirmek üzere serum katalaz, eritrosit süperoksit dismutaz, eritrosit redükte glutatyon ve serum malondialdehid düzeylerini çalışmayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEM

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilimdalı Pediatrik İmmunoloji Bilim dalınca takip edilmekte olan Yaygın Değişken İmmün yetmezlikli (YDİY) 21 hasta çalışmaya dahil edildi. Sağlıklı kontrol grubu yaş ve cinsiyet açısından uyumlu 27 bireyden oluşturuldu. YDİY hastalarımızın hepsi 3 haftada bir düzenli intravenöz immünoglobulin tedavisi almaktaydı. Kan örneklerinin alındığı sırada ve son 3 hafta içerisinde hiçbirinde aktif bir enfeksiyon bulgusu yoktu. Örnekler intravenöz immünoglobulin tedavisinden hemen önce alındı. Hastaların hepsinin son 3 ay içerisinde bakılan bazal immünoglobulin G düzeyleri 400mg/dl'nin üzerindeydi. Hiçbir hasta kortikosteroid dahil immünosupresif bir tedavi almamaktaydı. Çalışmaya katılanlardan heparinli, EDTA'lı ve kuru tüpe konmak üzere 10 cc kan alındı ve serum katalaz, eritrosit süperoksit dismutaz, eritrosit redükte glutatyon ve serum malondialdehid ölçümü yapıldı. Çalışma Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylandı. (26 Mayıs 2009 tarih ve 2009-9/44 no'lu karar)

Serum Katalaz Ölçümü (90)

Hidrojen peroksit (H_2O_2) ile serumun inkübe edilmesinden sonra ortamda kalan hidrojen peroksidin amonyum molibdat ile stabil bir kompleks oluşturması ve bunun spektrofotometrik olarak ölçümüne dayanır.

Kimyasallar:

- %30'luk H_2O_2
- Na_2HPO_4
- KH_2PO_4
- Amonyum molibdat $[(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O]$

Ayıracılar:

- Substrat : 664 μL H_2O_2 /100 fosfat tamponu

65 mmol H_2O_2 için;

$$\begin{array}{l} \%30\text{'luk } \text{H}_2\text{O}_2 \\ 1 \text{ L} = 1100 \text{ gr} \\ 34,01 \text{ gr/mol} \end{array} \left. \vphantom{\begin{array}{l} \%30\text{'luk } \text{H}_2\text{O}_2 \\ 1 \text{ L} = 1100 \text{ gr} \\ 34,01 \text{ gr/mol} \end{array}} \right\} \frac{1100 \times 0,30}{34,01} = 9790 \text{ mmol/L}$$

$$65 \text{ mmol} \times 100 \text{ ml} = 9790 \text{ mmol} \times \text{volum}$$

$$\text{Volum} = 0,664 \text{ ml}$$

$$\begin{array}{l} 60 \text{ mmol/L} : \text{Na}_2\text{HPO}_4 \quad 8,52 \text{ gr/1000 ml} \\ 60 \text{ mmol/L} : \text{KH}_2\text{PO}_4 \quad 8,16 \text{ gr/1000 ml} \end{array} \left. \vphantom{\begin{array}{l} 60 \text{ mmol/L} : \text{Na}_2\text{HPO}_4 \quad 8,52 \text{ gr/1000 ml} \\ 60 \text{ mmol/L} : \text{KH}_2\text{PO}_4 \quad 8,16 \text{ gr/1000 ml} \end{array}} \right\} \begin{array}{l} 88 \text{ ml} \\ + \\ 12 \text{ ml} \end{array}$$

oranında karıştırıldı. Hazırladığımız KH_2PO_4 ayıracı ile ya da bu ayıracın içine çok az fosforik asit koyularak fosfat tamponu pH: 7,4'e ayarlanır. Fosfat tamponunun pH'ı ayarlandıktan sonra H_2O_2 belirtilen miktarda eklenerek substratı hazırlandı.

- Amonyum molibdat (32,4 mol/L) : 4 gr/100 ml distile su.

Deneyin yapılışı:

Kör 1: 1ml substrat + 1 ml molibdat + 200 μL serum

Kör 2: 1ml substrat + 1 ml molibdat + 200 μL tampon

Kör 3: 1ml tampon + 1 ml molibdat + 200 μL tampon

Numune: 1 ml substrat + 200 μL serum \rightarrow 1 ml molibdat
(37°C'de 60 sn)

Enzimatik reaksiyon 1 ml amonyum molibdat eklenerek durduruldu ve açıkta kalan H_2O_2 ile amonyum molibdatın oluşturduğu sarı renkli kompleks 405 nm'de okundu. Serum katalaz aktivitesi 100 kU/L'ye kadar

lineer olup, sonucun daha yüksek çıkması durumunda; serum 2-10 kat fosfat tamponu ile sulandırılarak ölçüm tekrarlanır.

Deneyler deney tüpünde yapılarak vortekslendi. Öncelikle kör 3 yapıp daha sonra kör 2 yapıldı (kör 2'yi yaparken sarı renk oluşmalı). Daha sonra kör 1 yapıp numune yapılarak 37°C su banyosuna bırakıldı. Bu süre zarfında kör 1 kısa zamanlı inkübe edilmiş olarak ölçüldü.

Hesaplama:

$$\text{Serum katalaz kativitesi: (kU/L): } \frac{\text{Kör 1 Absorbsiyonu-Numune Absorbsiyonu}}{\text{Kör 2 Absorbsiyonu-Kör 3 Absorbsiyonu}} \times 271$$

Referans aralık :50.5± 18.1 kU/L (19-30 yaş kadın :43.8±16.4 kU/L)

Serum Malondialdehit (MDA) Düzeyi Ölçümü (91)

Serum MDA düzeyi ölçümü yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) cihazı ile yapıldı (intra-assay CV %4.2, inter-assay CV %6.8).

Tiyobutirik asit ile lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA 'nın asidik ortamda yüksek ısının etkisi ile pembe renkli kompleks oluşturması prensibine dayanır.

Serum MDA analizinde aşağıdaki özellikler kullanıldı.

Mobil faz bileşimi:%50 metanol (HPLC grade)

%50 2 mM fosfat tamponu (pH:6.5)

Mobil faz akış hızı: 0.8 ml/dk

Kolon: 10 cm uzunluğunda, 10 mm çapında C18 kolon kullanıldı.

Dalga boyu: 532 nm

Deneyin yapılışı:

Kör, numune ve standart tüplerinin her birine 500 µl 0.36 M fosforik asit (H₃PO₄), 500 µl 0.44 M TBA, 900 µl distile su ve 50 µl'lik sırasıyla distile su, serum ve standart eklendi. Reaksiyon karışımı 100 °C'de 1 saat inkübe edildi. Su banyosundan çıkarıldıktan sonra 10dk 4°C'de soğutuldu. Bu reaksiyon karışımından 400 µl alınarak üzerine 720 µl metanol (HPLC grade) ve 80 µl 1M sodyum hidroksit eklendi. 1500 xg'de 10 dk santrifuj edildikten sonra metanol fazından 50 µl alınarak HPLC'ye enjekte edildi.

Hesaplama:

0.5, 1, 2, 4, 6, 8, 10 nmol/ml'lik konsantrasyonlarda hazırlanan 1,1', 3,3'- tetrametoksipropan standartları ile çalışılarak standart eğri grafiği çizildi. Yaklaşık 4. dakikada görülen MDA pikinin alanına karşılık gelen değer standart eğri grafiğinden bulunarak konsantrasyon hesaplandı ve serum MDA düzeyi nmol/ml şeklinde ifade edildi.

Eritrosit Süperoksit Dismutaz Ölçümü

Eritrosit serum süperoksit dismutaz ölçümü ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) yöntemi ile Cayman Chemical Company Ann Arbor ,MI Superoxide Dismutase Assay Kit (Katalog no:706002) ile yapıldı. Eritrosit süperoksit dismutaz aktivitesi U/ml olarak hesaplandı.

Eritrosit Redükte Glutasyon Konsantrasyonu Ölçümü (92)

Eritrositlerin nonprotein sülfidril gruplarının tümü redükte GSH formundadır. 5,5'-ditiobis bir disülfid kromojendir ve sülfidril bileşikleri ile yoğun sarı renge indirgenir. İndirgenmiş kromojenin absorbanı 412 nm'de okunur ve GSH konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Eritrosit redukte glutasyon ölçümü için ACD (Antikoagüle Sitrata Dekstroz solusyonu) ile antikoagüle 3 ml tam kan kullanıldı.

Kullanılan ayıraçlar:

- Presipite edici solusyon. 100 ml'lik volumetrik flask içine 1.67 gr metafosforik asit, 0.20 gr disodyum-EDTA ve 30 gr NaCl konu, 100 ml'ye distile su ile tamamlandı.

- Disodyum fosfat solusyonu (0.3 mol/L). 1L'ik volumetrik flask içine 42.59 gr Na₂HPO₄ konu ve 1 L'ye distile su ile tamamlandı.

- DTNB ayıracı. 100 ml'lik volumetrik flask içine 40 mg DTNB (Sigma Chemical Co. St Louis, MO.) konu ve 100 ml'ye sodyum sitrat solusyonu (1 g/dl) ile tamamlandı.

- GSH kalibratörleri: 100 mg GSH (Siga Chemical Co., St Louis, MO.) 100 ml'lik volumetrik flask içine konur ve 100 ml'ye reaktif ayar su ile tamamlandı. GSH tamamıyla çözününceye kadar altüst edildi. 100 mg/dl'lik kalibratörün 5 ml'si reaktif ayar sudan sırasıyla 5 ml ve 45 ml ile seyreltilerek 50 mg/dl ve 10 mg/dl'lik kalibratörler hazırlandı. GSH kalibratörleri stabil olmadığından deneyin yapılacağı gün taze olarak hazırlandı.

Prosedür:

- 0.2 ml'lik tam kan 10 ml'lik test tübüne konu ve 1.8 ml distile su eklendi. Hemolize oluncaya kadar karıştırıldı.

- Hızlıca 3 ml presipite edici solusyon eklendi ve karıştırıldı.
- 5 dakika oda ısısında bırakıldı ve kaba filtre kağıdında filtre edildi.
- Uygun küvetler hazırlandı:

<u>Ayıraç</u>	<u>Boşluk</u>	<u>Örnek</u>
Filtrat	-	2.0
Presipite edici ayıraç	1.2	-
Su	0.8	-
Na ₂ HPO ₄ solusyonu	8.0	8.0
DTNB solusyonu	1.0	1.0

- Küvetler kapatılarak 3 kez altüst edilerek karıştırıldı.

- Kuvvetler hazırlandıktan sonra 4 dakika içinde absorbanans 412 nm'de okundu.
- Tam kan örneğinin hematokriti hesaplandı.
- Bir kalibratör eğrisi düzenlendi ve kan örneklerinin GSH konsantrasyonları grafikten belirlendi.

$$\text{GSH(mg/dL)} = \frac{\text{GSH konsantrasyonu (kalibrasyon eğrisinden)}}{\text{Hematokrit}}$$

Referans aralığı, RBC'lerin her desilitresi için 47 ile 100 mg GSH olarak kabul edildi.

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS 16.0 istatistik programı kullanarak değişkenler arasındaki ilişkiler incelendi. Kategorik değişken sıklıkları arasındaki farklar chi-square testi ile araştırıldı. Değişkenleri normal dağılıma uymayan bağımsız iki grubun karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. Median ile birlikte minimum ve maksimum değerler verilmiş olup anlamlılık düzeyi, $\alpha = 0.05$ ($p < 0.05$) alınmıştır.

BULGULAR

Çalışmaya Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Pediatrik İmmunoloji Polikliniği'nce takip edilmekte olan 21 Yaygın Değişken İmmün yetmezlikli hasta ve 27 sağlıklı kontrol dahil edildi. Hastaların 10'u kız (%47,6) ve 11'i (%52,3) erkek; kontrol bireylerin 15'i kız (%55,5) ve 12'si erkek (%44,4) olup gruplar arasında cinsiyet açısından anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Hastaların median yaşları 20 (6-44 yaş), kontrollerin median yaşı 21 (16-40 yaş) bulundu. Hastalar ve kontroller arasında yaş açısından anlamlı fark bulunmadı ($p >0,05$) (Tablo-4).

Tablo-4: Çalışmaya alınan bireylerin yaş ve cinsiyet dağılımı.

	Cinsiyet		Yaş (Median:min-max)
	kız	erkek	
YDİY'li hastalar	10	11	20 (6-44)
Sağlıklı kontrol	15	12	21(16-40)
<i>p</i>	0,799		0,458

Çalışmaya alınan YDİY'li bireylerin eritrosit süperoksit dismutaz median değeri 215,7866 U/ml , sağlıklı kontrollerin median değeri 234,7015 U/ml olup istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0.05$). YDİY'li bireylerin eritrosit redükte glutatyon median değeri 85,99 mg/dl, sağlıklı bireylerinki ise 88,56 mg/dl tespit edildi ve istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0.05$). Serum malondialdehid (MDA) düzeyi median değeri YDİY'li hastalarda 1,1120 nmol/ml iken, kontrol grubunda 0,8230 nmol/ml ölçüldü. İki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmemekle birlikte *p* değeri 0.06 bulundu. Serum katalaz düzeyi median değeri sağlıklı kontrollerde 56,52 kU/L iken, hasta grubunda 34,78 kU/L bulundu ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi ($p<0.05$) (Tablo-5).

Tablo-5: Çalışmaya alınan bireylerin katalaz, MDA, süperoksit dismutaz ve eritrosit redükte glutatyon median (sınırlar) değerleri.

	Katalaz (kU/L)	MDA (nmol/ml)	Süperoksit dismutaz (U/ml)	Eritrosit redükte glutatyon (mg/dl)
YDİY'li hastalar	34,7800 (12-84)	1,1120 (0,67-2,15)	215,7866 (114,19- 514,33)	85,9900 (131,54)
Sağlıklı kontrol	56,5200 (13,04-96,61)	0,8230 (0,36-1,79)	234,7015 (164,63- 305,09)	88,5600 (63,25- 120,19)
<i>p</i>	0,04	0,06	0,232	0,909

Hasta ve kontrol grupları kendi içlerinde hastalık faktörünü ekarte etmek üzere cinsiyete göre karşılaştırıldı ve katalaz, MDA, süperoksit dismutaz ve eritrosit redükte glutatyon median değerleri arasında istatistiksel fark saptanmadı (Tablo-6).

Tablo-6: Hasta ve kontrol grupları kendi içlerinde cinsiyete göre katalaz, MDA, süperoksit dismutaz ve eritrosit redükte glutatyon median değerleri karşılaştırması.

	Katalaz (kU/L)	MDA (nmol/ml)	Süperoksit dismutaz (U/ml)	Eritrosit redükte glutatyon (mg/dl)
YDİY'li hastalar	Erkek:46,86 Kadın:34,54	Erkek:1,109 Kadın:1,12	Erkek:218,19 Kadın:211,40	Erkek:85,99 Kadın:88,07
<i>p</i>	0,557	0,605	1,0	0,756
Sağlıklı kontrol	Erkek:53,62 Kadın:63,76	Erkek:0,78 Kadın:0,82	Erkek:235,24 Kadın:219,68	Erkek:79,88 Kadın:89,95
<i>p</i>	0,399	0,30	0,683	0,236

YDİY'li hastalarımız arasında bir hastada Sjögren sendromu, bir hastamızda alopesi, bir hastamızda juvenil romatoid artrit, bir hastamızda kronik inflamatuvar demyelinizan polinöropati olmak üzere 4 hastamızda (%19,6) otoimmün hastalık mevcuttu. Otoimmün hastalığı olan hastalar serum katalaz değerleri açısından olmayanlarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük saptandı (p:0.031). Bunun dışında üç hastamızda splenomegali, iki hastamızda hipersplenizm ve sitopeni, bir hastamızda akciğerde granülom, bir hastamızda dalakta granülom, dört hastamızda mediastinal lenfadenopati mevcuttu. Toplam 13 hastamızda (%61,9) yaygın değişken immün yetmezliğin herhangi bir enfeksiyon dışı komplikasyonu vardı. YDİY'li bireyler arasında enfeksiyon dışı komplikasyonu olan ve olmayanların süperoksit dismutaz düzeyleri açısından yapılan karşılaştırmada komplikasyonları olan hastalarda süperoksit dismutaz düzeyi yüksek saptanmıştır (p:0.053).

Tablo-7: Yaygın Değişken İmmün Yetmezlikli bireyler arasında enfeksiyon dışı komplikasyon görülen ve görülmeyenlerin katalaz, MDA, süperoksit dismutaz ve eritrosit redükte glutatyon median (sınırlar) değerleri açısından karşılaştırılması.

Komplikasyon	Katalaz (kU/L)	MDA (nmol/ml)	Süperoksit dismutaz (U/ml)	Eritrosit redükte glutatyon (mg/dl)
Var 13 hasta(%61.9)	49,5150 (12,08- 69,56)	1,125 (0,694-2,149)	224,0879 (195,84- 514,32)	85,3650 (67,12- 131,5)
Yok 8 hasta(%38,1)	34,30 (16,91- 84,05)	1,112 (0,667-1,951)	198,6333 (114,19- 258,63)	87,12 (65,74- 129,99)
<i>p</i>	0,860	0,860	0,053	0,804

Tablo-8: Yaygın Değişken İmmün Yetmezlikli bireyler arasında otoimmün hastalığı olanlar ile olmayanlar katalaz, MDA, süperoksit dismutaz ve eritrosit redükte glutasyon median (sınırlar) değerleri.

Otoimmün hastalık	Katalaz (kU/L)	MDA (nmol/ml)	Süperoksit dismutaz (U/ml)	Eritrosit redükte glutasyon (mg/dl)
Var 4 hasta(%19,0)	18,36 (16,91- 27,05)	1,297 (0,814-1,951)	207,20 (114,19- 218,24)	96,29 (74,45- 105,26)
Yok 17 hasta(%80,9)	46,86 (12,08- 84,05)	1,109 (0,667-2,149)	218,19 (139,48- 514,32)	84,74 (65,74- 131,54)
<i>p</i>	0,031	0,362	0,362	0,410

TARTIŞMA VE SONUÇ

Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik (YDİY); immünoglobulin ve koruyucu antikor yapımındaki bozukluğa ikincil tekrarlayan enfeksiyonlar ve otoimmünite ile karakterizedir. Genel yaklaşım olarak, minimum tanı yaşı 4 yaş olarak belirlenmekle birlikte hastalığın başlangıcı daha fazla 2. ve 3. dekatta görülür. Hastalığın kliniğinde akut veya kronik piyojenik enfeksiyonlara bağlı komplikasyonların yanında enfeksiyöz olmayan komplikasyonlar olarak otoimmün, inflamatuvar, immünoproliferatif patolojiler de sıklıkla görülmektedir. Otoimmün durumlardan en sık sitopeniler (trombositopeni, hemolitik anemi) tespit edilmektedir. Bunun yanında pernisiyöz anemi, tiroid hastalıkları, vitiligo, insülin bağımlı diyabet, psöriasis, sistemik lupus eritematozus, romatoid artrit, üveit, inflamatuvar barsak hastalıkları, primer biliyer siroz, sarkoidoz benzeri hastalık eşlik edebilen diğer otoimmün bozukluklardır. YDİY’de görülen karakteristik inflamatuvar durumlar multisistemik granülom, lenfoid interstisyel pnömonit, idiopatik enteropati, lenfadenopatiler, hepatomegali ve splenomegalidir. Genel olarak YDİY’de azalmış antikor üretimi görülmesine rağmen otoimmün, inflamatuvar, immünoproliferatif komplikasyonlar paradoksik olarak nadir değildir. Bu durum immün regülasyon bozukluğu, persistan immün aktivasyon ve sonucunda otoreaktivite ile açıklanabilir.

Serbest radikal hasarının solunum sistemi hastalıkları, toksikoloji, mutasyonlar ve neoplastik hastalıkların gelişimi, vasküler hasar, kardiyak hastalıklar ve immün sistem disfonksiyonu gibi tıbbın birçok alanda önemli olduğu düşünülmektedir. Söz konusu immün sistem olunca özellikle T hücrelerinin aktivasyon ve çoğalmasında, okside edici ve indirgeyici maddelerin ince bir şekilde orkestrasyonu gerekmektedir (93). Artmış oksidatif stres otoimmünite ve immün yetmezlik patogenezinde önemli olabileceği düşünülmektedir. YDİY’te oksidatif stresin araştırıldığı bir çalışmada hastaların hem stimüle olmuş hem de olmamış monositlerinde reaktif oksijen radikali üretimi artmış olarak bulunmuştur (89). Monositleri

solunumsal patlamaya yönlendiren artmış interferon gama üretiminin sonucu olarak artmış neopterin düzeyi saptanan bu hasta grubunda “monosit/makrofaj hiperaktivitesi ve kronik immün aktivasyon” düşünülmüştür. Bu hastalarda artmış reaktif oksijen radikali üretimi, azalmış CD4+ lenfosit sayısı ve splenomegali ile ilişkili bulunmuştur. T lenfosit aktivasyonunda artmış oksijen radikallerinin etkin olduğu ancak T lenfositlerde mitojene yanıtın bozulduğu gösterilmiştir (94, 95).

İmmün sistem disfonksiyonu ile oksidatif dengesizliğin ilişkilendirilmiş olması; antioksidan sistemlerin anti-inflamatuvar ve/veya anti-immünsüpresif mekanizmalarla bağlantılı olmasından dolayı bu çalışmada YDİY’li hastalarımızda bazı oksidatif stres belirteç düzeylerini ve bunların klinik bulgularla ilişkisini değerlendirdik.

Çalışmamızda 21 YDİY’li hasta, yaş ve cinsiyet açısından uyumlu 27 sağlıklı kontrol ile karşılaştırıldı. Çalışmaya alınan bireyler eritrosit redükte glutatyon, serum katalaz, eritrosit süperoksit dismutaz ve serum malondialdehid düzeyleri açısından kıyaslandı.

Redükte glutatyonun lenfosit altgruplarına göre farklılık göstermekle birlikte, özellikle lenfosit aktivasyonu sürecinde kritik bir rolü olduğu düşünülmektedir (96). Birçok çalışmada redükte glutatyon düzeyindeki azalmanın birçok inflamatuvar/immün-aracılı hastalığın patogenezinde yer aldığı ileri sürülmektedir. Bu durumda CD8+ ve sitotoksik lenfosit fonksiyonları inhibe olmakta, böylece CD4+ T lenfosit aktivitesi artmaktadır (97). Redükte glutatyon ve hücre redoks potansiyeli birçok inflamatuvar/immün–aracılıklı hastalığın patogenezinde rol alan NFkB (nükleer transkripsiyon faktörü kB)’nin aktivasyonunu ve nükleer translokasyonunu etkilemektedir (98). Azalmış redükte glutatyon düzeyleri IL1 ve T hücre reseptör–aracılıklı transdüksiyon sinyalizasyonunun inhibisyonuna sebep olmaktadır (99). Böylece lenfosit çoğalımı, sitotoksik aktivite, lenfokinle aktive öldürücü hücrelerin oluşması gibi bir dizi T hücre fonksiyonu redükte glutatyonun azalmasından etkilenmektedir. Ayrıca azalmış redükte glutatyon düzeyleri CD4+T hücre apoptozisine sebep olmakta ve CD16+ doğal öldürücü hücrelerin çoğalımını etkilemektedir (100). Bunun yanında birçok

otoimmün ve immün aracılıklı hastalıkta (örnek olarak sistemik lupus eritematozus, romatoid artrit, otoimmün tiroidit gibi) oksidatif strese karşı korunma, ksenobiotiklerin detoksifikasyonun sağlanması, oksidatif hasar sonucu ortaya çıkan aldehidik gruplar gibi patojenik antikor üretimine sebep olan yan ürünlerin temizlenmesi açısından redükte glutatyon büyük önem taşımaktadır (101-104). Aukrust ve ark. (87) tarafından yapılan bir çalışmada YDİY'li 20 hastanın CD4+ lenfositlerinde total ve redükte glutatyon düzeyleri düşük bulunmuş, özellikle de CD45RA+ alt gruplarında daha belirgin düşük saptanmıştır. Bu hastaların plazma total glutatyon düzeyleri de belirgin düşük ölçülmüştür. Aynı çalışmada in vivo persistan immün aktivasyonu, splenomegalisi ve CD4+ lenfopenisi olan YDİY'li hastalarda redükte ve total glutatyon düzeyleri düşük saptanmıştır. Ayrıca serum TNF α (tumor necrosis factor α) düzeyleri glutatyondaki azalma ile ters orantılı bir şekilde yüksek bulunmuştur; TNF α ile stimüle olan CD4+ T-lenfositlerde glutatyonunun azaldığı ve bunun reaktif oksijen radikallerinde artışa sebep olduğu ileri sürülmüştür. Bizim çalışmamızda YDİY'li ve sağlıklı kontrol bireylerin eritrosit redükte glutatyon düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmadı. Bu durum, çalışmaya alınan toplam hasta sayımızın az olmasına bağlı olabilir.

Reaktif oksijen radikalleri (süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, hidroksil radikali, tekli oksijen iyonu gibi) yüksek derecede reaktif geçici kimyasal moleküller olup, poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif dejenerasyonuna yol açarak birçok hastalığın patogeneğinde rol oynar. Reaktif oksijen radikalleri sürekli olarak endojen antioksidan enzimlerle (süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz) temizlenmektedir. Süperoksit dismutaz, katalaz veya peroksidazların aktivitesi stres veya başka bir faktör ile bozulursa lipid peroksidasyon hasarının potansiyel tehlikeli yolağı harekete geçmiş olur. Kurien ve ark. (105) sistemik lupus eritematozuslu hastalarda lipid peroksidasyon basamaklarının ara ve son basamak ürünlerini belirgin yüksek bulurken serum süperoksit dismutaz aktivitesini düşük bulmuşlardır. Bu sonucun serbest radikal savunma enzimlerine karşı oluşmuş otoantikorlara bağlı olabileceği hipotezi öne

sürülmüş ve sistemik lupus eritematozuslu hastalarda süperoksit dismutaza karşı otoantikolar belirgin olarak yüksek tespit edilmiştir. Bunun yanında Ben Mansour ve ark. (106) hem romatoid artrit hem de sistemik lupus eritematozuslu hastalarda süperoksit dismutaz ve katalaza karşı otoantikolar düzeylerini yüksek, her iki enzim aktivitesini serumda artmış saptamıştır. Birçok çalışmada romatoid artritli hastalarda plazma katalaz aktivitesi için çelişkili sonuçlar verilmektedir; bazı yayınlarda azalmış, bazı yayınlarda artmış enzim aktivitesi bulunmuştur (107, 108). Romatoid artritli hastalarda sinoviyal sıvıda katalaz aktivitesi yüksek bulunurken, eritrosit katalaz aktivitesinin azalmış veya değişmemiş olduğu çalışmalar mevcuttur (109-111). Sistemik lupus eritematozuslu hastalarda serum katalaz aktivitesi Taysi ve ark. (112) tarafından azalmış bulunurken Mohan ve ark. (113) tarafından değişmemiş bulunmuştur. Yine otoimmün bir hastalık olan Behçet hastalığında eritrosit süperoksit dismutaz ve katalaz düzeyleri düşük saptanmıştır (114). YDİY'li hastalarda süperoksit dismutaz aktivitesini değerlendiren bir çalışma mevcut değildir. YDİY'li hastaların lenfosit enzim düzeylerini araştıran bir çalışmada artmış peroksizomal aktiviteyi temsil edecek şekilde lenfosit katalaz ve eritrosit katalaz aktiviteleri kontrole göre yüksek bulunmuştur (115). Bizim çalışmamızda da eritrosit süperoksit dismutaz aktivitesi hasta grubunda kontrol ile karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo-5). YDİY'li bireyler arasında enfeksiyon dışı komplikasyonu olan ve olmayanların süperoksit dismutaz düzeyleri açısından yapılan karşılaştırmada komplikasyonları olan hastalarda süperoksit dismutaz düzeyi yüksek saptanmıştır (p:0.05) (Tablo-7). Bu bulgu, otoimmünite, granülom oluşumu, uzun süreli lenfadenomegali, splenomegali, sitopeni gibi enfeksiyon dışı komplikasyonu olan hastalarda oksidatif stresin bir göstergesi olarak yorumlanabilir. Serum katalaz aktivitesi YDİY'li hastalarda kontrol gruba göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük saptanmıştır (p<0.05). Yine otoimmün hastalığı olan (hastalarımızın %19'u) ve olmayan YDİY'li hastalarımızın karşılaştırmasında da katalaz aktivitesi otoimmün hastalığı olanlarda düşük saptanmıştır (p:0.03). Azalmış katalaz

aktivitesi, persistan immün aktivasyonunun olduğu YDİY'li hastalarda artmış oksidatif stresin bir sonucu olabilir.

Lipid peroksidasyonu, poliansature yağ asitlerinin serbest radikaller aracılığıyla oksidatif dejenerasyondur. Prooksidan-antioksidan dengenin bozulması ve artmış oksidatif stresin sonucu olarak lipid peroksidasyonu gelişir. Peroksidatif hasarın etkisi direk olarak artmış protein bağlı akrolein, protein karbonilasyonu, reaktif oksijen radikalleri ile modifiye DNA, konjuge dien, izoprostan, 4-hidroksinonenal, malondialdehid ve bunlarla modifiye protein düzeylerinin ölçümü ile değerlendirilebilir. Malondialdehid lipid peroksidasyonunun son basamak ürünüdür. Antioksidan savunma sisteminin bozulduğunun ve serbest radikal hasarının göstergesi olarak malondialdehid düzeyleri romatoid artrit , sistemik lupus eritematozus ve Behçet hastalığında yüksek bulunmuştur (105, 114, 116). Aukrust ve ark. (88) daha önceden bahsedilen persistan immün aktivasyonu, azalmış CD4+ lenfositleri ve artmış splenomegalisi olan YDİY'li hasta grubunda, önemli prooksidan etkileri olduğu bilinen homosistein ve sisteinilglisin düzeyini çalışmıştır. Artmış oksidatif stresin göstergesi olarak redükte homosistein ve redükte sisteinilglisin anlamlı şekilde yüksek saptanmıştır. Aynı çalışmada plazma malondialdehid yüksek, plazma beta karoten ve vitamin E düzeyleri düşük saptanmıştır. YDİY'de glutatyon, beta karoten ve vitamin E düzeylerindeki düşüklüğün oksidatif stresi arttırabileceği ve immünolojik ve klinik sonuçlara sebep olabileceği ileri sürülmüştür. Bizim çalışmamızda lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak malondialdehid düzeyleri açısından hasta ve kontrol bireyler arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. Ancak istatistiksel olarak p değeri (p:0.06) sınırda olması nedeniyle hasta sayısı arttırıldığı takdirde farklılık saptanabileceği düşünülmektedir (Tablo-5).

Bir dizi otoimmün hastalığın insidansı, başlangıcı, ilerlemesi, morbidite durumu ve klinik sonuçlar açısından cinsiyet farkı genel olarak kabul edilen bir noktadır. Çoğunlukla kadın olgularda daha yüksek insidans saptanırken (örnek sistemik lupus eritematozus), bazı otoimmün hastalıklarda cinsiyet farkı görülmez (örnek Behçet hastalığı). YDİY'li hastalarda da otoimmün fenomen kadın hastalarda (%61) daha sık

bildirilmektedir (58). Kadınlar erkeklerle karşılaştırıldığında daha çok antijen sunucu aktivite ve mitojenik cevap, daha yüksek immünoglobulin düzeyleri ve artmış antikor yapımı göstermektedir. Kadınlarda, gebelik dışında, immün sistem daha çok proinflamatuvar sitokinler ve sitotoksik T lenfositlerle karakterize Th1 cevabı vermektedir (117). Seks hormonları immün cevabı kantitatif olarak modüle edebilmektedir. Genel olarak östrojenlerin humoral immün cevabı arttırdığı, androjenlerin ve progesteronun doğal immünsüpresör olarak davrandığı bilinmektedir. Östrojenler ve prolaktin otoreaktif B hücreleri stimüle ederler ve tolerans mekanizmalarından bu hücrelerin kaçmalarını sağlayarak matür ve fonksiyonel antikor sentezleyen B hücreleri haline gelmelerini sağlarlar (117, 118). Benzer şekilde, cinsiyet farkının redoks durumuna etkileri üzerine bulgular vardır. Reaktif oksijen radikallerinin kadınlarda ve erkeklerde farklı şekilde düzenlendiğine ve bu düzenlemenin seks hormonları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (119). Bunun yanında erkek farelerde vasküler düz kas hücrelerinde apoptozise ve oksidatif strese yatkınlık tespit edilmiş ve östrojenin anti-apoptotik aktivitesi üzerinde durulmuştur (120). Çalışmamızda oksidatif stres belirteçlerinin cinsiyet açısından farklılıkları da irdelenmiştir. Hasta ve kontrol grupları kendi içlerinde cinsiyete göre karşılaştırıldı ve katalaz, MDA, süperoksit dismutaz ve eritrosit redükte glutatyon median değerleri arasında istatistiksel fark saptanmadı ($p>0.05$). Cinsiyet farkının bu parametreler üzerinde etkisi olmadığı görüldü. Süperoksit dismutaz ve eritrosit redükte glutatyon için cinsiyet açısından yapılan karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır. Her bir oksidatif stres belirtecinin cinsiyet farkı ile ilişkisinin netleştirilmesi için çok sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır.

Yaygın Değişken İmmün Yetmezlik antikor üretim bozukluğu ile giden, çeşitli immün sistem hücre gruplarında bozuklukların saptandığı heterojen bir hastalık grubudur. Sıklıkla enfeksiyöz komplikasyonları yanında otoimmünite, inflamatuvar/immünoproliferatif ve maligniteyle de sonuçlanan komplikasyonları bulunmaktadır. Bizim çalışmamızda hasta ve sağlıklı kontrol grupları arasında serum katalaz düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi. Serum malondialdehid düzeyleri açısından

YDİY'li hastalar ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmemekle birlikte p değeri sınırda bulundu. Otoimmün hastalığı olan ve olmayan YDİY'li hastalarımızın karşılaştırmasında da katalaz aktivitesi otoimmün hastalığı olanlarda düşük saptanmıştır. Persistan immün aktivasyonun gözlemlendiği bu hastalıkta artmış oksidatif stresin, immünpatogeneze rol oynayabileceği ve belli klinik bulgulara (otoinflamatuvar gibi) neden olabileceği düşünüldü. Bu konuda daha çok çalışmanın, daha fazla hasta sayısı ile yapılmasına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Halliwell B, Gutteridge JM. Free radicals in biology and medicine. Oxford: Clarendon Press; 1996.
2. Kurien BT, Scofield RH. Curcumin/turmeric solubilized in sodium hydroxide inhibits HNE protein modification--an in vitro study. *J Ethnopharmacol* 2007;110:368–73.
3. Valenzuela A. The biological significance of malondialdehyde determination in the assesment of tissue oxidative stres. *Life Sci* 1991; 48:301-9.
4. Dekkers JC, Van Doornen LP, Kemper Han CG. The role of antioxidant vitamins and enzymes in the prevention of exercise – induced muscle damage. *Sports Med* 1996;21:213-38.
5. Klein RA. The detection of oxidation in liposome preparations. *Biochim Biophys Acta* 1970;210:486-9.
6. Singh RB, Shinde SN, Chopra RK et al. Effect of coenzyme Q10 on experimental atherosclerosis and chemical composition and quality of atheroma in rabbits. *Atherosclerosis* 2000;148:275-82.
7. Feeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab Invest* 1982;47:412-26.
8. Kurien BT, Scofield RH. Free radical mediated peroxidative damage in systemic lupus erythematosus. *Life Sci* 2003;73:1655–66.
9. Gutteridge JMC, Westermarck T, Halliwell B. Oxygen radical damage in biological systems. In: Johnson JE, Walford R, Harman D, Miquel J (eds). *Free Radicals, Aging, and Degenerative Diseases*. New York: Alan R. Liss; 1985. 9.
10. Stadtman ER. Oxidation Of Free Aminoacids and Aminoacids Residues In Protein By Radiolysis and Metal Catalyzed Reactions. *Annu Rev Biochem* 1993; 62:797- 821
11. Chopineau J, Sommier MF, Sautou V. Evaluation of free radical production in an ischemia-reperfusion model in the rabbit using a tourniquet. *J Pharm Pharmacol* 1994;46:519-20.
12. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza yayınlar;1995.
13. Slater TF. Free radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J* 1984; 15:1-15.
14. Beyer W, Imlay J, Fridovich I. Superoxide Dismutases. *Prog. Nucl. Acid Res* 1991; 40:221-53
15. Buschfort C, Muller MR, Seeber S, Rajewsky MF, Thomale J. DNA excision repair profiles of normal and leukemic human lymphocytes: functional analysis at the single-cell level. *Cancer Res* 1997;57: 651–8.
16. Babior BM, Kipnes RS, Curnutte JT. Biological defense mechanisms. The production by leukocytes of superoxide, a potential bactericidal agent. *J Clin Invest* 1973;52:741–4.

17. Salin ML, McCord JM. Free radicals and inflammation: protection of phagocytosing leukocytes by superoxide dismutase. *J Clin Invest* 1975;56:1319–23.
18. Turrens JF, Crapo JD, Freeman BA. Protection against oxygen toxicity by intravenous injection of liposome-entrapped catalase and superoxide dismutase. *J Clin Invest* 1984; 73: 87–95.
19. Halliwell B, Murcia MA, Chirico S, Auroma O. Free radicals and antioxidants in food and in vivo: what they do and how they work. *Critical Rev. Food. Sci. And Nutrit* 1995;35: 7-20.
20. Pastore A, Federici G, Bertini E, Piemonte F. Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *Clin Chim Acta* 2003;333:19–39.
21. Hayes JD, McLellan LI. Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a coordinately regulated defence against oxidative stress. *Free Radic Res* 1999;31:273–300.
22. Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin. Chem* 2006; 52:601–23.
23. Wood LG, Garg ML, Blake RJ, Simpson JL, Gibson PG. Oxidized vitamin E and glutathione as markers of clinical status in asthma. *Clin. Nutr* 2008;27:579–86.
24. Lang CA, Mills BJ, Mastropaolo W, Liu MC. Blood glutathione decreases in chronic diseases. *J Lab Clin Med* 2000;135: 402–5.
25. Bast A, Haenen GR; Van den Berg R, Van den Berg H. Antioxidant effects of carotenoids. *Int J Vitam Nutr Res* 1998 ; 68: 399-403.
26. Slater TF. Free radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J* 1984; 15:1-15.
27. Stadtman ER. Oxidation of free aminoacids and aminoacids residues in protein by radiolysis and metal catalyzed reactions. *Annu Rev Biochem* 1993;62: 797-821.
28. Cuzzocrea S, Reiter RJ. Pharmacological actions of melatonin in acute and chronic inflammation. *Curr Top Med Chem* 2002; 2:153-65.
29. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995;41:1819-28.
30. Fialkow L, Wang Y, Downey GP. Reactive oxygen and nitrogen species as signaling molecules regulating neutrophil function. *Free Radic Biol Med* 2007;42:153–64.
31. Hansen JM, Go YM, Jones DP. Nuclear and mitochondrial compartmentation of oxidative stress and redox signaling. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2006;46:215–34.
32. Song JJ, Lee YJ. Differential role of glutaredoxin and thioredoxin in metabolic oxidative stress-induced activation of apoptosis signal-regulating kinase 1. *Biochem J* 2003;373:845–53.
33. Kapoor M, Clarkson AN, Sutherland BA, Appleton I. The role of antioxidants in models of inflammation: emphasis on L-arginine and arachidonic acid metabolism. *Inflammopharmacology* 2005;12: 505–19.

34. Sukkar SG, Rossi E. Oxidative stress and nutritional prevention in autoimmune rheumatic diseases. *Autoimmun Rev* 2004;3:199–206.
35. Ortona E, Margutti P, Matarrese P, Franconi F, Malorni W. Redox state, cell death and autoimmune diseases: a gender perspective *Autoimmun Rev* 2008;7:579-84.
36. Matarrese P, Cauda R, Malorni W. Activation-associated mitochondrial hyperpolarization hijacks T cells toward an apoptosis-sensitized phenotype. *Cell Death Differ* 2003;10:609–11.
37. Nagy G, Koncz A, Fernandez D, Perl A. Nitric oxide, mitochondrial hyperpolarization, and T cell activation. *Free Radic Biol Med* 2007;42: 1625–31.
38. Matarrese P, Tinari A, Gambardella L, et al. HIV protease inhibitors prevent mitochondrial hyperpolarization and redox imbalance and decrease endogenous uncoupler protein- 2 expression in gp 120-activated human T lymphocytes. *Antivir Ther* 2005;2:29–45.
39. Giovannetti A, Pierdominici M, Di Iorio A, et al. Apoptosis in the homeostasis of the immune system and in human immune mediated diseases. *Curr Pharm Des* 2008;14:253–68.
40. Rashedi I, Panigrahi S, Ezzati P, Ghavami S, Los M. Autoimmunity and apoptosis–therapeutic implications. *Curr Med Chem* 2007;14:139–51.
41. Mackay IR, Leskovsek NV, Rose NR. Cell damage and autoimmunity: a critical appraisal. *J Autoimmun* 2008;30:5–11.
42. Fernandez D, Perl A. Metabolic control of T cell activation and death in SLE. *Autoimmun Rev* 2009;8:184–9.
43. Orrenius S. Reactive oxygen species in mitochondria-mediated cell death. *Drug Metab Rev* 2007;39:443–55.
44. Kannan S. Molecular basis of the drug resistance induced autoimmunity: a redox theory. *Medical Hypotheses* 2005;64:882–3.
45. Dimitrov JD, Vassilev TL, Andre S, Kaveri SV, Lacroix-Desmazes S. Functional variability of antibodies upon oxidative processes. *Autoimmun Rev* 2008;7:574–8.
46. Kurien BT, Hensley K, Bachmann M, Scofield RH. Oxidatively modified autoantigens in autoimmune diseases. *Free Radic Biol Med* 2006;41: 549–56.
47. Notarangelo LD, Fischer A, Geha RS, et al. Primary immunodeficiencies: 2009 update. International Union of Immunological Societies Expert Committee on Primary Immunodeficiencies. *J Allergy Clin Immunol* 2009;124:1161-78.
48. Chapel H, Cunningham-Rundles C. Update in understanding common variable immunodeficiency disorders (CVIDs) and the management of patients with these conditions. *Br J Haematol* 2009;145:709-27.
49. Chapel H, Lucas M, Lee M, Bjorkander J, Webster D, Grimbacher B, Fieschi C, Thon V, Abedi MR & Hammarstrom L. Common variable immunodeficiency disorders: division into distinct clinical phenotypes. *Blood* 2008;112: 277–286

50. Cuningham-Rundles C. Common variable immunodeficiency. In: Stiehm ER, Ochs HD, Winkelstein JA (eds). *Immunologic Disorders in Infants and Children*. 5th edition. Philadelphia: Elsevier; 2004. 374-80.
51. Goldacker S, Warnatz K. Tackling the heterogeneity of CVID. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005; 5:504-9.
52. Salzer U, Chapel HM, Webster AD, et al. Mutations in TNFRSF13B encoding TACI are associated with common variable immunodeficiency in humans. *Nat Genet* 2005;37:820-8.
53. Salzer U, Maul-Pavicic A, Cunningham-Rundles C, et al. ICOS deficiency in patients with common variable immunodeficiency. *Clin Immunol* 2004;113:234-40.
54. Farrington M, Grosmaire LS, Nonoyama S, et al. CD40 ligand expression is defective in a subset of patients with common variable immunodeficiency. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:1099-103.
55. Pozzi N, Gaetaniello L, Martire B, et al. Defective surface expression of attractin on T cell in patients with common variable immunodeficiency (CVID). *Clin Exp Immunol* 2001;123:99-104.
56. Zhang JG, Morgan L, Spickett GP. L-selectin in patients with common variable immunodeficiency (CVID): a comparative study with normal individuals. *Clin Exp Immunol* 1996;104:275-9.
57. Saxon A, Keld B, Braun J, Dotson A, Sidell N. Long-term administration of 13-cis retinoic acid in common variable immunodeficiency: circulating interleukin-6 levels, B-cell surface molecule display, and in vitro and in vivo B-cell antibody production. *Immunology* 1993;80:477-87.
58. Cunningham-Rundles C, Bodian C. Common variable immunodeficiency: clinical and immunological features of 248 patients. *Clin Immunol* 1999;92:34-48.
59. International Union of Immunological Societies. Primary immunodeficiency diseases. Report of an IUIS Scientific Committee. International Union of Immunological Societies. *Clin Exp Immunol* 1999; 118:1-28.
60. Sneller MC, Strober W, Eisenstain E, et al. New insights into common variable immunodeficiency. *Ann Intern Med* 1993;118:720-30.
61. Aukrust P, Muller F, Froland SS. Elevated serum levels of IL-4 and IL-6 in patients with common variable immunodeficiency (CVID) are associated with chronic immune activation and low numbers of CD4+ lymphocytes. *Clin Immunol Immunopathol* 1994;70:217-24.
62. Wright JJ, Wagner DK, Blaese RM, Hagengruber C, Waldmann TA, Fleisher TA. Characterization of common variable immunodeficiency: identification of a subset of patients with distinctive immunophenotypic and clinical features. *Blood* 1990;76:2046-51.
63. Baumert E, Wolff-Vorbeck G, Schlesier Peter HH. Immunophenotypical alterations in a subset of patients with common variable immunodeficiency (CVID). *Clin Exp Immunol* 1992;90:25-30.
64. Cambroner R, Sewell WA, North ME, Webster AD, Farrant J. Up-regulation of IL-12 in monocytes: a fundamental defect in common variable immunodeficiency. *J Immunol* 2000;164:488-94.

65. Mullighan CG, Fanning GC, Chapel HM, Welsh KI. TNF and lymphotoxin-alpha polymorphisms associated with common variable immunodeficiency: role in the pathogenesis of granulomatous disease. *J Immunol* 1997; 159:6236-41
66. Mullighan CG, Marshall SE, Bunce M, Welsh KI. Variation in immunoregulatory genes determines the clinical phenotype of common variable immunodeficiency. *Genes Immun* 1999;1:137-48
67. Kainulainen L, Varpula M, Liippo K, Svedstrom E, Nikoskelainen J & Ruuskanen O. Pulmonary abnormalities in patients with primary hypogammaglobulinemia. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1999; 104: 1031-6.
68. Webster A, Taylor-Robinson D, Furr PM & Asherson GL. Chronic cystitis and urethritis associated with ureaplasma and mycoplasma infection in primary hypogammaglobulinaemia. *British Journal of Urology* 1982;54: 287-91.
69. Lee AH, Levinson AI & Schumacher Jr HR. Hypogammaglobulinemia and rheumatic disease. *Seminars in Arthritis and Rheumatism* 1993;22, 252-64.
70. Webster AD, Windsor H, Ling C, Windsor D & Pitcher D. Chronic bronchitis in immunocompromised patients: association with a novel Mycoplasma species. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* 2003;22: 530-4.
71. Onbası K, Gunsar F, Sin AZ, Ardeniz O, Kokuludag A & Sebik F. Common variable immunodeficiency (CVID) presenting with malabsorption due to giardiasis. *Turkish Journal of Gastroenterology* 2005; 16: 111-3.
72. Park JH, Levinson AI. Granulomatous-lymphocytic interstitial lung disease (GLILD) in common variable immunodeficiency (CVID). *Clin Immunol* 2010;134:97-103.
73. Mechanic LJ, Dikman S, Cunningham-Rundles C. Granulomatous disease in common variable immunodeficiency. *Ann Intern Med* 1997;127:613-7.
74. Mullighan CG, Fanning GC, Chapel HM, Welsh KI. TNF and lymphotoxin-alpha polymorphisms associated with common variable immunodeficiency: role in the pathogenesis of granulomatous disease. *J Immunol* 1997;159:6236-41.
75. Bates CA, Ellison MC, Lynch DA, Cool CD, Brown KK, Routes JM. Granulomatous-lymphocytic lung disease shortens survival in common variable immunodeficiency. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:415-21.
76. Knight AK & Cunningham-Rundles C. Inflammatory and autoimmune complications of common variable immune deficiency. *Autoimmunity Reviews*, 2006;5:156-9.
77. Gompels M, Hodges E, Lock RJ, Angus B, White H, Larkin A, Chapel HM, Spickett GP, Misbah SA & Smith JL. Associated Study Group. Lymphoproliferative disease in antibody deficiency: a multi-centre study. *Clinical and Experimental Immunology*, 2003;134: 314-20.
78. Le Guern V, Le Roux G, Martin A, Feuillard J, Cohen P, Poirel H, Raphael M, Guillevin L & Mouthon L. Lymphoma complicating

common variable immunodeficiency with granulomatous disease: report of two cases. *European Journal of Haematology* 2003; 71: 459–63

79. Ariatti C, Vivenza D, Capello D, Migliazza A, Parvis G, Fassone L, Buonaiuto D, Savinelli F, Rossi D, Saglio G & Gaidano G. Common-variable immunodeficiency-related lymphomas associate with mutations and rearrangements of BCL-6: pathogenetic and histogenetic implications. *Human Pathology* 2000;31: 871–3.
80. Pavic M, Sève P, Malcus C, et al. Common variable immunodeficiency with autoimmune manifestations: study of nine cases; interest of a peripheral B-cell compartment analysis in seven patients. *Rev Med Interne* 2005;26:95–102.
81. Bloch-Michel C, Viillard JF, Blanco P, et al. Common variable immunodeficiency: 17 observations in the adult. *Rev Med Interne* 2003;24:640–50.
82. Warnatz K, Wehr C, Dräger R, et al. Expansion of CD19(hi)CD21(lo/neg) B cells in common variable immunodeficiency (CVID) patients with autoimmune cytopenia. *ImmUnobiology* 2002;206:502–13.
83. Hermaszewski RA, Webster AD. Primary hypogammaglobulinaemia: a survey of clinical manifestations and complications. *Q J Med* 1993;86:31–42.
84. Swierkot J, Lewandowicz-Uszynska A, Chlebicki A, et al. Rheumatoid arthritis in a patient with common variable immunodeficiency: difficulty in diagnosis and therapy. *Clin Rheumatol* 2006;25: 92–4.
85. Ko J, Radigan L, Cunningham-Rundles C. Immune competence and switched memory B cells in common variable immunodeficiency. *Clin Immunol* 2005;116:37–41.
86. Mullighan CG, Marshall SE, Welsh KI. Mannose binding lectin polymorphisms are associated with early age of disease onset and autoimmunity in common variable immunodeficiency. *Scand J Immunol* 2000;51:111–22.
87. Aukrust P, Svardal AM, Müller F, et al. Decreased levels of total and reduced glutathione in CD4+ lymphocytes in common variable immunodeficiency are associated with activation of the tumor necrosis factor system: possible immunopathogenic role of oxidative stress. *Blood* 1995;86:1383-91.
88. Aukrust P, Berge RK, Müller F, et al. Elevated plazma levels of reduced homocysteine in common variable immunodeficiency-a marker of enhanced oxidative stress. *Eur J Clin Invest* 1997;27:723-30.
89. Aukrust P, Müller F, Frøland SS. Enhanced generation of reactive oxygen species in monocytes from patients with common variable immunodeficiency. *Clin Exp Immunol* 1994;97:232-8.
90. Góth L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. *Clin Chim Acta* 1991;196:143-51.

91. Young IS, Trimble ER. Measurement of malondialdehyde in plasma by high performance liquid chromatography with fluorimetric detection. *Ann Clin Biochem* 1991;28:504-8.
92. Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* 1963;61:882-8.
93. Dröge W, Eck HP, Gmünder H, Mihm S. Modulation of lymphocyte functions and immune responses by cysteine and cysteine derivatives. *Am J Med* 1991;91:140-4.
94. Schreck R, Rieber P, Baeuerle PA. Reactive oxygen intermediates as apparently widely used messengers in the activation of the NF-kappa B transcription factor and HIV-1. *EMBO J* 1991;10:2247-58.
95. Carson DA, Seto S, Wasson DB. Lymphocyte dysfunction after DNA damage by toxic oxygen species. A model of immunodeficiency. *J Exp Med* 1986;163:746-51.
96. Droge W, Pottmeyer-Gerber C, Schmidt H, Nick S. Glutathione augments the activation of cytotoxic T lymphocytes in vivo. *Immunobiology* 1986;172:151-6.
97. Gmunder H, Droge W. Differential effects of glutathione depletion on T cell subsets. *Cell Immunol* 1991;138:229-37.
98. Mihm S, Galter D, Droge W. Modulation of transcription factor NF-kB activity by intracellular glutathione levels and by variations of the extracellular cysteine supply. *FASEB J* 1995;9:246-52.
99. Tewes F, Bol GF, Brigelius-Flohe R. Thiol modulation inhibits the interleukin-1-mediated activation of an IL-1 receptor associated protein kinase and NF-kB. *Eur J Immunol* 1997;27:3015-22
100. Arrigo AP. Gene expression and the thiol redox state. *Free Radic Biol Med* 1999;27:936-44.
101. Gambhir JK, Lali P, Jain AK. Correlation between blood antioxidant levels and lipid peroxidation in rheumatoid arthritis. *Clin Biochem* 1997;30:351-5.
102. Burek CL, Rose NR. Autoimmune thyroiditis and ROS. *Autoimmun Rev* 2008;7:530-7.
103. Griffiths HR. Is the generation of neo-antigenic determinants by free radicals central to the development of autoimmune rheumatoid disease? *Autoimmun Rev* 2008;7:544-9.
104. Kurien BT, Scofield RH. Autoimmunity and oxidatively modified autoantigens. *Autoimmun Rev* 2008;7:567-73.
105. Kurien BT, Scofield RH. Free radical mediated peroxidative damage in systemic lupus erythematosus. *Life Sci* 2003;73:1655-66.
106. Mansour RB, Lassoued S, Gargouri B, et al. Increased levels of autoantibodies against catalase and superoxide dismutase associated with oxidative stress in patients with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Scand J Rheumatol* 2008;37:103-8.
107. Mezes M, Bartosiewicz G. Investigations on vitamin E and lipid peroxide status in rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 1983;2:259-63
108. Kamanli A, Naziroglu M, Aydilek N, Hacievliyagil C. Plasma lipid peroxidation and antioxidant levels in patients with rheumatoid arthritis. *Cell Biochem Funct* 2004;22:53-7.

109. Igari T, Kaneda H, Hourichi S, Ono S. A remarkable increase of superoxide dismutase activity in synovial fluid of patient with rheumatoid arthritis. *Clin Orthop Relat Res* 1982;162:282–7.
110. Cimen MY, Cimen OB, Kaçmaz M, Oztürk HS, Yorgancıoğlu R, Durak I. Oxidant/antioxidant status of the erythrocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 2000;19:275-7.
111. Sarban S, Kocyigit A, Yazar M, Isikan UE. Plazma total antioxidant capacity, lipid peroxidation, and erythrocyte antioxidant enzyme activities in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Clin Biochem* 2005;38:981–6.
112. Taysi S, Gul M, Sari RA, Akcay F, Bakan N. Serum oxidant/antioxidant status of patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Chem Lab Med* 2002;40:684–8.
113. Mohan IK, Das UN. Oxidant stress, anti-oxidants and essential fatty acids in systemic lupus erythematosus. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 1997;56:193–8.
114. Aydin E, Sogut S, Ozyurt H, Ozugurlu F, Akyol O. Comparison of serum nitric oxide, malondialdehyde levels, and antioxidant enzyme activities in Behcet's disease with and without ocular disease. *Ophthalmic Res* 2004;36:177–82.
115. Shah T, Webster AD, Peters TJ. Lymphocyte enzyme activities in immunodeficiency syndromes with particular reference to common variable hypogammaglobulinaemia. *Clin Exp Immunol* 1983;53:413-22.
116. Jaswal S, Mehta HC, Sood AK, Kaur J. Antioxidant status in rheumatoid arthritis and role of antioxidant therapy. *Clin Chim Acta* 2003;338:123-9.
117. Zandman-Goddard G, Peeva E, Shoenfeld Y. Gender and autoimmunity. *Autoimmun Rev* 2007;6:366–72.
118. Orbach H, Shoenfeld Y. Hyperprolactinemia and autoimmune diseases. *Autoimmun Rev* 2007;6:537–42.
119. Malorni W, Campesi I, Straface E, Vella S, Franconi F. Redox features of the cell: a gender perspective. *Antioxid Redox Signal* 2007;9: 1779–801.
120. Malorni W, Straface E, Matarrese P, et al. Redox state and gender differences in vascular smooth muscle cells. *FEBS Lett* 2008;582:635-42.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince her konuda destek veren anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Nihat Sapan'a ve eski anabilim dalı başkanlarımız Prof Dr Ünsal Günay, Prof. Dr. Ömer Tarım ve Prof. Dr. Mehmet Okan'a, tezim ve öncesindeki akademik çalışmalarım konusunda desteğini ve önerilerini hiçbir zaman esirgemeyen tez danışmanım Prof Dr. Şebnem Kılıç'a, tezimin hazırlanması aşamasında biyokimyasal çalışmaları gerçekleştiren Prof. Dr. Melahat Dirican ve Araştırma Görevlisi Dr. Emine Kırhan'a, istatistiksel analizlerin yapılmasında destek veren Uzm Dr. Taner Özgür'e, asistanlığım süresince birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD asistanları, hemşire ve personeline teşekkür ederim.

Son olarak, tüm eğitim ve öğretim hayatım süresince hep yanımda olan ve desteklerini her zaman hissettiren anneme ve babama, akademik çalışmalarımda desteğini bir an olsun esirgemeyen eşime ve ailemizin yeni üyesi kızıma sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

ÖZGEÇMİŞ

1979 yılında Bursa'da doğdum. İlköğrenimimi Özel Namık Sözeri İlkokulu'nda, orta ve lise öğrenimimi Bursa Ulubatlı Hasan Anadolu Lisesi'nde tamamladım. 1997-2003 yıllarında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde (İngilizce) yüksek öğrenimimi tamamladıktan sonra Kasım 2005 tarihinde Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak uzmanlık eğitimime başladım. European Society for Immunodeficiency'ye (ESID) üyeyim. Evliyim ve bir kızım var. İleri seviyede İngilizce biliyorum.