

Kronik obstrüktif akciğer hastalığında TGF- β 1 G/A ve TNF- α 308 G/A gen polimorfizmleri ile hava yolu direncinin değerlendirilmesi

Kevser MELEK¹, Gaye ULUBAY¹, Sevinç SARINÇ ULAŞLI², Hasibe VERDİ³, Belgin ATAÇ³, Fusun ÖNER EYÜBOĞLU¹

¹ Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara,

² Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Afyonkarahisar,

³ Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

ÖZET

Kronik obstrüktif akciğer hastalığında TGF- β 1 G/A ve TNF- α 308 G/A gen polimorfizmleri ile hava yolu direncinin değerlendirilmesi

Giriş: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) tüm dünyada önemli bir mortalite ve morbidite nedenidir. Her ne kadar KOAH için spesifik bir gen bölgesi tanımlanmamış olsa da özellikle inflamatuvar süreçte rol alan tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α), dönüştürülmüş büyüme faktörü-beta1 (TGF- β 1) gibi sitokin genlerine ait bazı polimorfizmlerin KOAH gelişiminde etkili olabileceği gösterildi. Bu çalışma, KOAH'lı olgularda TGF- β 1 G/A ve TNF- α 308 G/A gen polimorfizmleriyle hava yolu direnci artışını değerlendirmek amacıyla yapıldı.

Hastalar ve Metod: Çalışmaya toplam 264 olgu dahil edildi (Grup 1; KOAH tanısı almış 75 hasta, Grup 2; en az 10 paket yılı sigara içmiş ancak hava yolu obstrüksiyonu gelişmemiş 139 hasta, Grup 3; sağlıklı 50 birey). Olgulara solunum fonksiyon testi ve vücut pleizmografsiyle hava yolu direnci ölçümü yapıldı. TGF- β 1 800 G/A ve TNF- α 308 G/A gen polimorfizmleri değerlendirildi. İstatistiksel analiz için ki-kare testi, Anova ve korelasyon analizleri kullanıldı.

Bulgular: KOAH olguları evrelerine göre TNF- α 308 G/A polimorfizm açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0.05$). Evre I olguların 13 (%23.6)'ünün bu polimorfizmi taşıdığı, evre II ve evre III olgularda bu polimorfizmin olmadığı saptandı. KOAH olguları evrelerine göre TGF- β 1 800 G/A polimorfizmi açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p > 0.05$). Gruplar arasında TNF- α genotipi ve TGF- β 1 genotipi ve TNF- α 308 G/A ve TGF- β 1 800 G/A polimorfizm sıklığı açısından farklılık saptanmadı. Ayrıca, hava yolu direnci artmış ve artmamış olgular arasında da TNF- α 308 G/A ve TGF- β 1 800 G/A polimorfizmi açısından anlamlı fark bulunmadı.

Sonuç: Bu sonuçlar ile TNF- α 308 G/A ve TGF- β 1 800 G/A polimorfizmlerinin toplumumuzda KOAH gelişimine ve hava yolu direncine katkısının önemli derecede olmadığı öngörülebilir.

Anahtar Kelimeler: KOAH, hava yolu direnci, TGF- β 1 G/A gen polimorfizmi, TNF- α 308 G/A gen polimorfizmi.

Yazışma Adresi (Address for Correspondence):

Dr. Sevinç SARINÇ ULAŞLI, Afyon Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, AFYONKARAHİSAR - TÜRKİYE
e-mail: sevincsarinc@gmail.com

SUMMARY

Associations between TGF-β1 G/A and TNF-α 308 G/A gene polymorphisms with airway resistance in chronic obstructive pulmonary disease

Kevser MELEK¹, Gaye ULUBAY¹, Sevinç SARINÇ ULAŞLI², Hasibe VERDİ³,
Belgin ATAÇ³, Füsün ÖNER EYÜBOĞLU¹

¹ Department of Chest Diseases, Faculty of Medicine, Baskent University, Ankara, Turkey,

² Department of Chest Diseases, Faculty of Medicine, Afyon Kocatepe University, Afyonkarahisar, Turkey,

³ Department of Medical Biology, Faculty of Medicine, Baskent University, Ankara, Turkey.

Introduction: Chronic obstructive pulmonary disease (COPD) is an important morbidity and mortality cause all over the world. Although specific gene region has not been defined in the pathogenesis of COPD, cytokine gene polymorphisms like tumor necrosis factor-alfa (TNF-α) and transforming growth factor-beta1 (TGF-β1) may contribute to the development of COPD. The aim of the present study was to evaluate the associations between airway resistance with TGF-β1 G/A and TNF-α 308 G/A gene polymorphisms in COPD patients.

Patients and Methods: 264 subjects were included to the study (Group 1; 75 COPD patients, Group 2; 139 subjects with at least 10 packet year smoking history without airflow obstruction, Group 3; 50 healthy subjects). Pulmonary function tests and body plethysmography to measure airway resistance were performed to the subjects. TGF-β1 800 G/A and TNF-α 308 G/A gene polymorphisms were evaluated. Chi-square, Anova and correlation analysis were used for statistical analysis.

Results: There were significant difference among COPD stages in terms of TNF-α 308 G/A polymorphism ($p < 0.05$). Thirteen (23.6%) stage 1 COPD patients had TNF-α 308 G/A polymorphism and the other did not have. We did not find statistically significant difference among COPD stages in terms of TGF-β1 800 G/A polymorphism ($p > 0.05$). TNF-α and TGF-β1 genotypes and TNF-α 308 G/A and TGF-β1 800 G/A polymorphisms were not different among study groups. Moreover, no significant differences between subjects with and without increased airway resistance in terms of TNF-α 308 G/A and TGF-β1 800 G/A polymorphisms were present.

Conclusion: These results can suggest the lack of association between TNF-α 308 G/A and TGF-β1 800 G/A gene polymorphisms with COPD development and airway resistance in Turkish population.

Key Words: COPD, airway resistance, TGF-β1 800 G/A gene polymorphism, TNF-α 308 G/A gene polymorphism.

Tuberk Toraks 2013; 61(1): 1-11 • doi: 10.5578/tt.4390

GİRİŞ

Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA) küresel olarak artmaktadır ve 2020 yılında üçüncü sıklıkta ölüm nedeni olacağı düşünülmektedir (1). Günümüze kadar hastalığın progresyonunu azaltacak ya da seyrini değiştirecek bir tedavi yöntemi geliştirilememiştir. Epidemiyolojik verileri düşük değerlere çekebilmek için, hastalığın tedavisi kadar, sorumlu risk faktörlerinin de bilinmesi ve engellenmesi önemlidir. Günümüzde KOA hastalarının yaklaşık %20'sinin yaşamları boyunca sigara içmemiş olması, buna karşılık yoğun sigara içicilerinin sadece %10-20'sinde KOA geliştiğinin bilinmesi nedeniyle KOA'nın etyolojisine yönelik çalışmalar özellikle sitokin genlerinin polimorfizmine yönelmiştir (2-4). Her ne kadar KOA için spesifik bir gen bölgesi tanımlanmamış olsa da özellikle inflamatuvar süreçte rol alan tümör nekroz faktörü-alfa (TNF-α), dönüştürücü büyüme faktörü-beta1 (TGF-β1) gibi sitokin genle-

rine ait bazı polimorfizmlerin KOA gelişiminde etkili olabileceğini gösteren çalışmalar vardır (5,6).

KOA hastalarında hava akımı kısıtlanmasını ortaya koyan en sağlıklı tanı yöntemi spirometredir. Ancak periferik hava yolu direncinde hafif bir artış konvansiyonel spirometrik testlere yansımamaktadır. Günümüzde rutin kullanılmayan hava yolu direnci (Raw) ölçümü ise doğrudan hava yolunun çapını yansıtan bir parametredir (7).

Bu bilgilerden yola çıkarak çalışmamız;

1. KOA'lı olgularda TGF-β1 G/A ve TNF-α 308 G/A gen polimorfizmlerinin rolünü,
2. KOA'lı olgularda gen polimorfizminin hava yolu direncine etkisini,
3. KOA'lı olgularda hava yolu direnci ile hava yolu obstrüksiyonu arasındaki ilişkiyi değerlendirmek amacıyla yapıldı.

HASTALAR ve METOD

Çalışma Hastaları

Çalışma grubumuza dahil edilen hastalar Eylül 2007-Ağustos 2008 tarihleri arasında merkezimize başvuran hastalar arasından randomize olarak seçildi. Çalışma için Araştırma Kurulu etik kurul onayı alındı ve hastalar bilgilendirme ve onam formu kendilerine okutulup imzaları alındıktan sonra çalışmaya dahil edildi.

Çalışmaya toplam 264 olgu dahil edildi. Olgular sigara ve KOAH varlığı özelliklerine göre iki gruba ayrıldı, grup 3 sağlıklı kontrol olgularından oluşturuldu.

Grup 1; GOLD'da tanımlanan kriterlere göre yeni tanı KOAH ya da önceden KOAH tanısı almış 75 hastadan oluşmuştur (8). Hastaların stabil dönemde olmaları göz önüne alınarak son altı hafta içerisinde infeksiyon bulgularının olmaması, son altı haftada alevlenme olmaması ve laboratuvar değerlerinde önemli bir değişiklik olmamasına dikkat edildi.

Grup 2; en az 10 paket yılı sigara içmiş ancak GOLD'da tanımlanan kriterlere göre KOAH tanısı olmayan 139 hastadan oluştu. Bu grup da kendi içinde hava yolu direnci artmayan 28 hasta ve hava yolu direnci artmış 111 hasta olarak iki alt gruba ayrıldı. Hastalarda son altı hafta içerisinde ateş, balgam miktarı ya da pürülansında artış gibi infeksiyon bulgularının olmamasına dikkat edildi.

Grup 3; kontrol grubu ise hiç sigara içmemiş 50 sağlıklı gönüllüden oluştu (Tablo 1).

Çalışmamızdan dışlama kriterleri;

1. Son altı hafta içinde KOAH atak/infeksiyon tablosu olan hastalar.
2. Bronkodilatasyon testi pozitif olan hastalar: Bronkodilatasyon testi pozitifliği bazal değere göre FEV₁'de en az %12'lik ve 200 mL'lik artış olması olarak değerlendirildi (9).
3. Solunum fonksiyon testi bulgularına göre restriktif akciğer hastalığı olan hastalar.

4. Kırk yaşından küçük, 70 yaşından büyük olan hastalar.

Genotip Tayini

Her bir hastadan moleküler analiz için 0.072 mL %7.5 K3-etilendiamintetraasetik asit (EDTA) solüsyonu içeren standart tüplere 10'ar mL venöz kan alındı. Moleküler analiz için gerekli olan genomik DNA izole edilip -80°C'de saklandı.

Olguların TGF-β1 800 G/A ve TNF-α 308 G/A genotipleme Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı DNA Analiz Laboratuvarında yapıldı. Olgulara ait DNA'lar fenol kloroform ekstraksiyon yöntemi kullanılarak elde edildi. Hedef bölgelere özgü primerler kullanılarak yapılan polimeraz zincir reaksiyonu (PCR)'nu takiben uygun restriksiyon enzimi ile keserek RFLP analiziyle genotipleme gerçekleştirildi. Örnekler TGF-β1 800 için G/A, G/G ve A/A; TNF-α 308 için G/A, G/G ve A/A olmak üzere üç genotip şeklinde sınıflandırıldı.

Solunum Fonksiyon Testi ve Vücut Pletismografisiyle Hava Yolu Direncinin Ölçümü

Solunum fonksiyon testi manevraları, deneyimli bir teknisyen tarafından işlem öncesi olgulara anlatıldı. Tüm manevralar hasta 90° dik oturur konumda iken, spirometri cihazı (Sensormedics, V_{max} Spectra 229 Biltoven, The Netherlands) kullanılarak yapıldı, ATS/ERS kriterlerine uyan testler kabul edildi (10). Tüm olguların FEV₁ ve FVC değerleri ölçüldü, FEV₁/FVC bu değerlerden hesaplandı. FEV₁/FVC beklenen değer %70'inin altında olan olgulara 200 µg salbutamol inhalasyonunu takiben 20 dakika sonra FEV₁ değeri tekrar ölçüldü. FEV₁'de beklenen değere göre %12 ve mutlak değere göre 200 mL'lik artış olan olguların bronkodilatasyon testi kabul edilerek çalışma dışı bırakıldı.

Solunum fonksiyon testi laboratuvarımızda yer alan volüm-sabit vücut pletismografisi (MasterScope Body version 5.0; Viasys Healthcare GmbH, Hoechst, Germany) ile olguların hava yolu direnci ölçüldü. Cihaz her gün 2.46 L sınığa kullanılarak kalibre edildi. Elektronik olarak volümlerin BTPS karşılığı hesaplandı.

Tablo 1. Çalışma grubu.

| | Stabil KOAH grubu | Obstrüksiyonu olmayan, hava yolu direnci artmamış olgular | Obstrüksiyonu olmayan, hava yolu direnci artmış olgular | Kontrol grubu |
|--------|-------------------|---|---|---------------|
| Erkek | 61 | 26 | 75 | 15 |
| Kadın | 14 | 2 | 36 | 35 |
| Toplam | 75 | 28 | 111 | 50 |

KOAH: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı.

Cihaz, hastanın uygun oturabileceği şekilde (boyun fleksiyonu/ekstansiyonu olmadan ağızlığı erişebilecek şekilde) ayarlandı. Ölçüm sırasında burun mandalı kullanıldı ve hasta yanaklarını elleriyle destekledi. Kapı kapanıp hasta ağız parçasını ağızına aldıktan sonra shutter (hava yolu kapatıcı) açık olarak hastaya saniyede iki kez ve yüzeysel solunumla (tidal volümden düşük volümden) kısa kesik soluma manevrası (panting) yaptırıldı. Hava akımı direkt olarak pnömotakograf aracılığıyla ağızdan ölçüldü ve akım ile pletismograf basıncı arasında S biçiminde bir eğri elde edildi. Daha sonra shutter kapatıldı ve hasta normal nefes alıp vermeye devam ettirildi. Shutter 3-5 saniye sonra otomatik açıldığında hastaya güçlü bir ekspirium yaptırıldı. Ekspirium sonunda FVC manevrası da yaptırılıp test sonlandırıldı. Bu manevralar sırasında ölçülen hava yolu akımı, alveoler basınç, ağız içi basınç kullanılarak hava yolu direnci sistem tarafından aşağıda verilen formül ile otomatik olarak hesaplandı (11-13):

$$Raw = \frac{P_A - P_{ao}}{V}$$

Raw: Hava yolu direnci (cmH₂O/L/s)

P_{ao}: Ağız içi basınç (cmH₂O)

P_A: Alveoler basınç (cmH₂O)

V: Akım (L/s)

İstatistiksel Analiz

Bu araştırmada elde edilen veriler SPSS 15.0 (SPSS INC, Chicago, IL, USA) programında istatistiksel olarak değerlendirildi. Gruplara göre değişkenler (cinsiyet, aktif sigara içicisi ve sigarayı bırakmış olma durumu, TNF-α 308 G/A, TGF-β1 800 G/A polimorfizmlerinin varlığı) açısından farklılık ki-kare testiyle değerlendirildi. Ayrıca KOAH evrelerine TNF-α 308 G/A ile TGF-β1 800 G/A polimorfizmleri açısından ve Raw değerine göre TNF-α 308 G/A, TGF-β1 800 G/A polimorfizmleri açısından farklılık yine ki-kare testiyle değerlendirildi. Gruplara göre yaş ortalaması, hematokrit ortalaması, spirometrik ve pletismografik parametrelerin ortalama-

sı ± SS değerleri verilerek Anova ile değerlendirildi. FEV₁/FVC, FEV₁, %FEF₂₅₋₇₅ değerleri ile Raw ve sRaw değerleri arasındaki ilişki Pearson's korelasyon analiziyle değerlendirildi.

BULGULAR

Çalışmamıza toplam 264 olgu dahil edildi. Olguların 75'i stabil KOAH'lı (Grup 1), 139'u sigara içicisi ancak KOAH'ı olmayan (Grup 2) ve 50'si sigara içmemiş sağlıklı kontrol olgularıydı (Grup 3). Gruplar arası yaş dağılımında istatistiksel anlamlı farklılık yoktu (p > 0.05) (Tablo 2). Gruplar arasında cinsiyet dağılımına bakıldığında istatistiksel anlamlı farklılık vardı (p < 0.0001). Sigara içen sağlıklı olgular ve KOAH grubunda olguların çoğunluğu erkekti (Tablo 2). Grup 1'deki olguların ortalama FEV₁ (L) değeri 2.5 ± 0.7, Grup 2'de 3.3 ± 0.7 ve Grup 3'te 3.0 ± 0.9 olarak bulundu. KOAH grubunda ortalama FEV₁ (L) değerleri daha düşüktü (p < 0.0001). Grup 1'de olguların ortalama FEF₂₅₋₇₅ (L/saniye) değeri 1.2 ± 0.5, Grup 2'de 4.4 ± 6.1 ve Grup 3'te 3.2 ± 1.4 olarak bulundu. Gruplar arasında küçük hava yolu obstrüksiyonu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p > 0.05). Tüm gruplarda spirometrik parametrelerin ortalama ± SS değerleri Tablo 2'de görülmektedir.

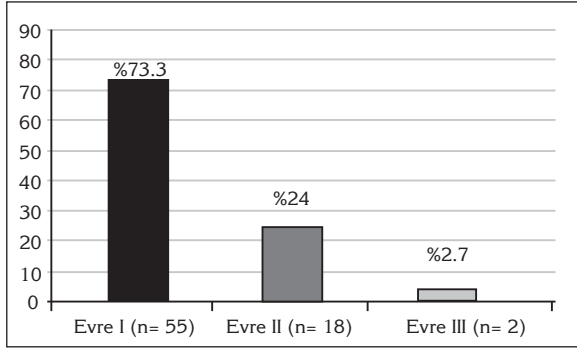
Evrelere göre KOAH'lı olgulara bakıldığında 55 olgu evre I, 18 olgu evre II, 2 olgu evre III KOAH'lıydı (Şekil 1).

Grup 1'deki olguların sigara paket yılı ortalaması 45.1 ± 29.4, Grup 2'deki olguların sigara paket yılı ortalaması 34.3 ± 17.9 idi. Grup 1 ile Grup 2 arasında sigara paket yılı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı, ortalama paket yıl sayısı KOAH'lı grupta daha fazlaydı (p < 0.05) (Şekil 2).

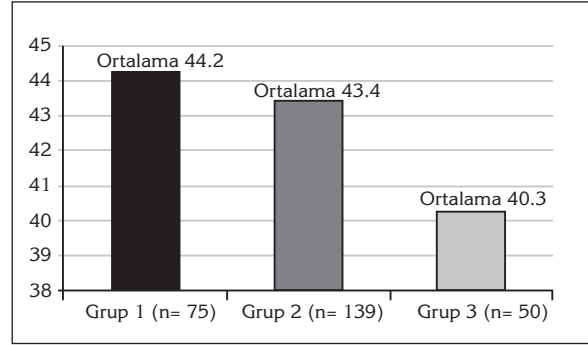
Grup 1'deki 40 (%53.3) olgu aktif sigara içicisi iken, 35 (%46.7) olgu sigarayı bırakmıştı. Grup 2'nin ise 91 (%65.5)'i aktif sigara içicisi, 48 (%34.5)'i sigarayı bırakmış olgulardan oluşmaktaydı. Gruplar arasında ak-

Tablo 2. Olguların yaş ortalaması, cinsiyet dağılımı ve spirometrik parametrelerin ortalama değeri

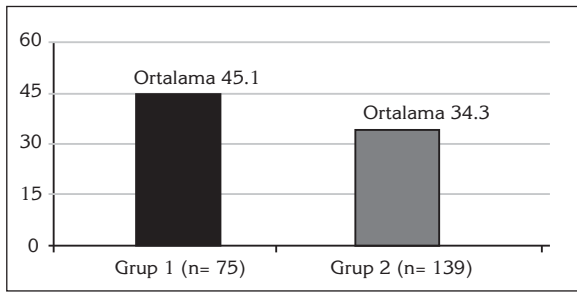
| | Grup 1 (n= 75) | Grup 2 (n= 139) | Grup 3 (n= 50) | p |
|---------------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|----------|
| Yaş (yıl) | 55.2 (± 6.9) | 53.2 (± 7.3) | 54.5 (± 9.8) | > 0.05 |
| Cinsiyet (kadın/erkek) | 14/61 | 38/101 | 30/20 | < 0.0001 |
| FVC (L) | 4.17 ± 1.0 | 4.33 ± 0.9 | 3.7 ± 0.1 | < 0.05 |
| FEV ₁ (L) | 2.5 ± 0.7 | 3.3 ± 0.7 | 3.0 ± 0.9 | < 0.0001 |
| FEV ₁ /FVC (%) | 60 ± 7.4 | 77 ± 4.0 | 80 ± 3.9 | < 0.0001 |
| FEF ₂₅₋₇₅ (L/saniye) | 1.2 ± 0.5 | 4.4 ± 16.1 | 3.2 ± 1.4 | > 0.05 |



Şekil 1. KOAH'lı olguların evrelere göre % dağılımı.



Şekil 4. Olguların ortalama hematokrit değerleri.

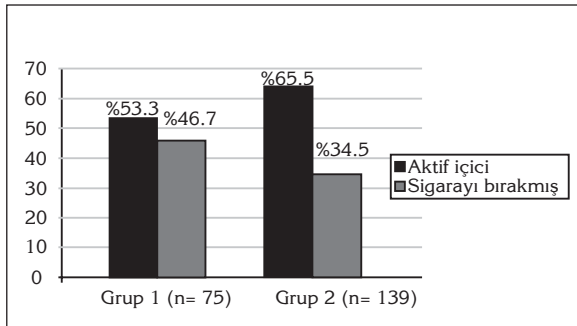


Şekil 2. Grup 1 ve 2'deki olguların sigara paket yılı ortalamaları.

tif sigara içicisi ve sigarayı bırakmış olma açısından anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$) (Şekil 3).

Grup 1'deki olguların ortalama hematokrit değeri 44.2 ± 4.4 , Grup 2'deki olguların 43.4 ± 4.5 , Grup 3'teki olguların ise 40.2 ± 4.1 olarak saptandı. Sigara içmemiş sağlıklı kontrol grubundaki olguların hematokrit değeri daha düşük bulundu ($p < 0.0001$) (Şekil 4).

Olguların grup 1'de ortalama Raw ($\text{cmH}_2\text{O.saniye/L}$) ve sRaw ($\text{cmH}_2\text{O.saniye}$) değerleri sırasıyla 3.4 ± 1.5 ve 15.3 ± 7.1 , Grup 2'de 3.1 ± 1.4 ve 11.2 ± 4.1 , Grup 3'te ise 3.3 ± 1.5 ve 10.6 ± 4.4 olarak saptandı. Gruplar arasında ortalama Raw değeri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmazken ($p > 0.05$), ortalama



Şekil 3. Gruplar arasında aktif sigara içicisi ve sigarayı bırakmış olguların % dağılımı.

ma sRaw'ın KOAH olgularında istatistiksel olarak anlamlı şekilde farklı ve daha yüksek olduğu saptandı ($p < 0.001$). Raw $2 \text{ cmH}_2\text{O.saniye/L}$ eşik değeri olarak kabul edildiğinde Grup 1'deki olguların 60 (%80)'inde, Grup 2'deki olguların 111 (%79.9)'ünde, Grup 3'teki olguların 44 (%88)'ünde yüksek bulundu ancak gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.05$). Tüm gruplarda pletismografik ölçüm sonuçları Tablo 3'te verilmiştir.

Olguların FEV_1/FVC , FEV_1 , $\% \text{FEF}_{25-75}$ değerleri ile Raw ve sRaw değerleri arasında negatif bir korelasyon saptadık ($p < 0.05$) (Tablo 4) (Şekil 5,6).

Gruplar TNF- α genotipi yönünden karşılaştırıldığında; Grup 1'de A/A genotipi 45 (%60) olguda, G/A genotipi 13 (%17.3) olguda, G/G genotipi ise 17 (%22.7) olguda saptandı. Grup 2'de A/A genotipi 84 (%60.4) olguda, G/A genotipi 32 (%23) olguda, G/G genotipi ise 23 (%16.5) olguda saptandı. Grup 3'te A/A genotipi 35 (%70) olguda, G/A genotipi 8 (%16) olguda, G/G genotipi 6 (%12) olguda, A/G genotipi ise sadece 1 (%2) olguda saptandı. Gruplar arasında TNF- α genotipi yönünden istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0.05$). TNF- α 308 G/A polimorfizm sıklığı açısından gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$). Gruplara göre TNF- α 308 G/A polimorfizm dağılımı Tablo 5'te verilmiştir.

Gruplar TGF- $\beta 1$ genotipi yönünden karşılaştırıldığında; Grup 1'de A/A genotipi 1 (%1.3) olguda, G/A genotipi 35 (%46.7) olguda, G/G genotipi ise 39 (%52) olguda saptandı. Grup 2'de A/A genotipi 2 (%1.4) olguda, G/A genotipi 49 (%35.3) olguda, G/G genotipi ise 88 (%63.3) olguda saptandı. Grup 3'te A/A genotipi 1 (%2) olguda, G/A genotipi 21 (%42) olguda, G/G genotipi ise 28 (%56) olguda saptandı. Gruplar arasında TGF- $\beta 1$ genotipi yönünden farklılık saptanmadı ($p > 0.05$). Ayrıca, TGF- $\beta 1$ 800 G/A polimorfizm sıklığı açısından da gruplar arasında istatistiksel olarak an-

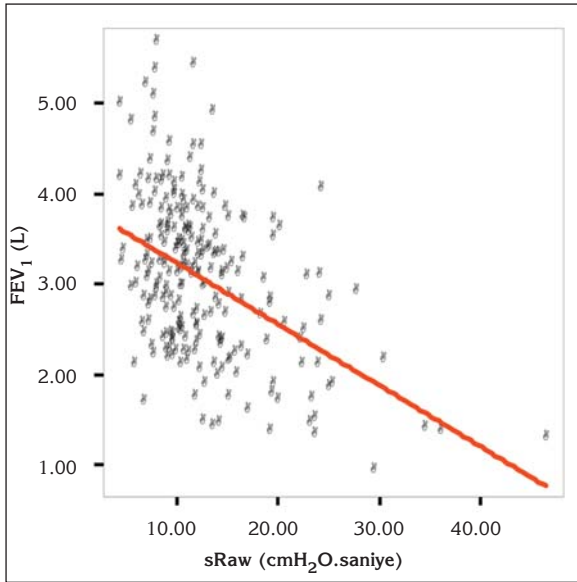
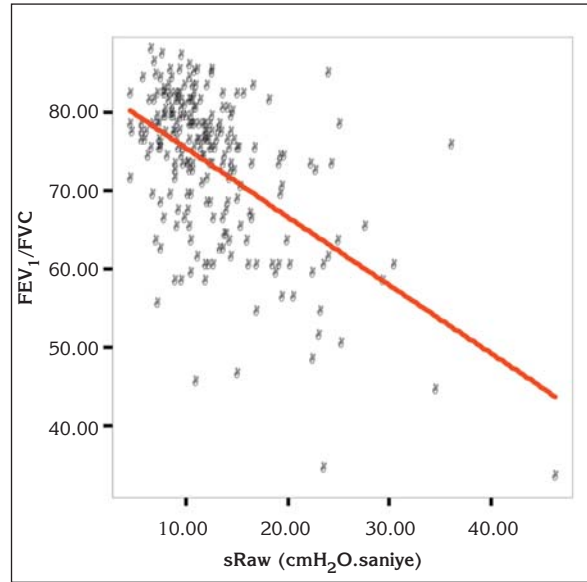
Tablo 3. Tüm gruplarda pletismografik parametrelerin dağılımı.

| | Grup 1 (n= 75) | Grup 2 (n= 139) | Grup 3 (n= 50) | p |
|---------------------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|----------|
| Raw (cmH ₂ O.saniye/L) | 3.4 ± 1.5 | 3.1 ± 1.4 | 3.3 ± 1.5 | > 0.05 |
| sRaw (cmH ₂ O.saniye) | 15.3 ± 7.1 | 11.2 ± 4.1 | 10.6 ± 4.4 | < 0.0001 |
| Raw ≥ 2 (cmH ₂ O.saniye/L) | 60 (%80) | 111 (%79.9) | 44 (%88) | > 0.05 |
| Raw < 2 (cmH ₂ O.saniye/L) | 15 (%20) | 28 (%20.1) | 6 (%12) | > 0.05 |

Tablo 4. FEV₁/FVC, FEV₁, %FEF₂₅₋₇₅ değerleri ile Raw ve sRaw değerleri arasındaki ilişki.

| | FEV ₁ /FVC | | %FEF ₂₅₋₇₅ | | FEV ₁ | |
|-----------------------------------|-----------------------|---------|-----------------------|---------|------------------|---------|
| | r | p | r | p | r | p |
| Raw (cmH ₂ O.saniye/L) | -0.174 | < 0.05 | -0.308 | < 0.001 | -0.544 | < 0.001 |
| sRaw (cmH ₂ O.saniye) | -0.518 | < 0.001 | -0.485 | < 0.001 | -0.437 | < 0.001 |

R

Şekil 5. FEV₁ ile sRaw arasındaki ilişki.Şekil 6. FEV₁/FVC ile sRaw arasındaki ilişki.

lamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$). Gruplar arasında TGF- β 1 800 G/A polimorfizm dağılımı Tablo 5'te verilmiştir.

KOAH olguları evrelerine göre TNF- α 308 G/A polimorfizm açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0.05$). Evre I olguların 13 (%23.6)'ünün bu polimorfizmi taşıdığı, evre II ve evre III olgularda bu polimorfizmin olmadığı saptandı. KOAH evrelerine göre TNF- α 308 G/A polimorfizm dağılımı Tablo 6'da gösterilmiştir. KOAH olguları evrelerine göre TGF- β 1 800 G/A polimorfizm açısından değerlendirildiğinde ise evre I olgularının 26 (%47.3)'ünün, evre II olgu-

larının 8 (%44.4)'inin ve evre III olgularının 1 (%50)'inin bu polimorfizmi taşıdığı saptandı. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0.05$) (Tablo 6).

Grup 2'de sigara içimi, Raw ve TNF- α 308 G/A polimorfizmi arasındaki ilişkiyi göstermek amacıyla olgular değerlendirildiğinde; hava yolu direnci 2 ve üzerinde olan 24 (%21.6) olguda ve hava yolu direnci 2'nin altında olan 8 (%28.6) olguda TNF- α 308 G/A polimorfizmi saptandı. Ancak hava yolu direnci artmış ve artmamış olgular arasında TNF- α 308 G/A polimorfizmi açısından anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.05$). Grup 2 olguların TNF- α 308 G/A polimorfizm dağılımı Tablo 7'de verilmiştir.

Tablo 5. Gruplar arasında TNF- α 308 G/A ve TGF- β 1 800 G/A polimorfizm dağılımı.

| TNF- α 308 G/A | Grup 1 (n= 75) | Grup 2 (n= 139) | Grup 3 (n= 50) | p* |
|------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|--------|
| A/A | 45 (%60) | 84 (%60.4) | 35 (%70) | > 0.05 |
| G/A | 13 (%17.3) | 32 (%23) | 8 (%16) | |
| G/G | 17 (%22.7) | 23 (%16.5) | 6 (%12) | |
| A/G | 0 | 0 | 1 (%2) | |
| p** | | > 0.05 | | |
| TGF- β 1 800 G/A | Grup 1 (n= 75) | Grup 2 (n= 139) | Grup 3 (n= 50) | p* |
| A/A | 1 (%1.3) | 2 (%1.4) | 1 (%2) | > 0.05 |
| G/A | 35 (%46.7) | 49 (%35.3) | 21 (%42) | |
| G/G | 39 (%52) | 88 (%63.3) | 28 (%56) | |
| p** | | > 0.05 | | |

* TNF- α 308 G/A ve TGF- β 1 800 G/A polimorfizmlerinin gruplar arasındaki dağılımı için.
** Gruplar arasındaki TNF- α 308'e ve TGF- β 1 800'e ait genotipik dağılım için.
TNF- α : Tümör nekroz faktörü-alfa, TGF- β 1: Dönüştürücü büyüme faktörü-beta1.

Tablo 6. KOAH evrelerine göre TNF- α 308 G/A ve TGF- β 1 800 G/A polimorfizm dağılımı.

| TNF- α 308 G/A | Evre I (n= 55) | Evre II (n= 18) | Evre III (n= 2) | p* |
|------------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------|
| A/A | 29 (%52.7) | 14 (%77.8) | 2 (%100) | < 0.05 |
| G/A | 13 (%23.6) | 0 | 0 | |
| G/G | 13 (%23.6) | 4 (%22.2) | 0 | |
| p** | | < 0.05 | | |
| TGF- β 1 800 G/A | Evre I (n= 55) | Evre II (n= 18) | Evre III (n= 2) | p* |
| A/A | 1 (%1.8) | 0 | 0 | > 0.05 |
| G/A | 26 (%47.3) | 8 (%44.4) | 1 (%50) | |
| G/G | 28 (%50.9) | 10 (%55.6) | 1 (%50) | |
| p** | | > 0.05 | | |

* TNF- α 308 G/A ve TGF- β 1 800 G/A polimorfizminin KOAH evreleri arasındaki dağılımı için.
** KOAH evreleri arasındaki TNF- α 308 ve TGF- β 1 800'e ait genotipik dağılım için.
KOAH: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı, TNF- α : Tümör nekroz faktörü-alfa, TGF- β 1: Dönüştürücü büyüme faktörü-beta1.

Tablo 7. Grup 2 için TNF- α 308 G/A polimorfizm dağılımı.

| Grup 2 (n= 139) | Raw \geq 2 (cmH ₂ O.saniye/L) (n= 111) | Raw < 2 (cmH ₂ O.saniye/L) (n= 28) | p* |
|-----------------------|--|--|--------|
| TNF- α 308 G/A | | | |
| A/A | 70 (%63.1) | 14 (%50) | > 0.05 |
| G/A | 24 (%21.6) | 8 (%28.6) | |
| G/G | 17 (%15.3) | 6 (%21.4) | |
| p** | | > 0.05 | |

* TNF- α 308 G/A polimorfizminin hava yolu direncine göre dağılımı için.
** Hava yolu direncine göre TNF- α 308'e ait genotipik dağılım için.
TNF- α : Tümör nekroz faktörü-alfa, Raw: Hava yolu direnci.

Tablo 8. Grup 2 için TGF-β1 800 G/A polimorfizm dağılımı.

| Grup 2 (n= 139) | Raw ≥ 2 (cmH ₂ O.saniye/L) (n= 111) | Raw < 2 (cmH ₂ O.saniye/L) (n= 28) | p* |
|--------------------|---|--|--------|
| TNF-β1 800 G/A | | | |
| A/A | 2 (%1.8) | 0 | |
| G/A | 37 (%33.3) | 12 (%42.9) | > 0.05 |
| G/G | 72 (%64.9) | 16 (%57.1) | |
| p** | > 0.05 | | |

* TGF-β1 800 G/A polimorfizminin hava yolu direncine göre dağılımı için.
** Hava yolu direncine göre TGF-β1 800'e ait genotipik dağılım için.
TGF-β1: Dönüştürücü büyüme faktörü-beta1, Raw: Hava yolu direnci.

Grup 2'de sigara içimi, Raw ve TGF-β1 800 G/A polimorfizmi arasındaki ilişkiyi göstermek amacıyla olgular değerlendirildiğinde; hava yolu direnci 2 ve üzerinde olan 37 (%33.3) olguda ve hava yolu direnci 2'nin altında olan 12 (%42.9) olguda TGF-β1 800 G/A polimorfizmi saptandı. Ancak hava yolu direnci artmış ve artmamış olgular arasında TGF-β1 800 G/A polimorfizmi açısından anlamlı fark bulunmadı ($p > 0.05$) (Tablo 8).

TARTIŞMA

Çalışmamızda KOAH'lı ve sigara içen grupta erkek cinsiyetin daha fazla olduğu (sırasıyla %81.3 ve %72.7) görüldü. Çalışma sonuçlarımızla benzer olarak Dünya Sağlık Örgütü verilerinde KOAH'ın erkeklerde daha fazla olduğu bildirilmektedir (14). Ülkemiz verilerine baktığımızda ise 2003-2004 yıllarında Adana Bölgesinde yapılan BOLD çalışmasında da erkeklerde KOAH oranı %29.3 ve kadınlara göre daha yüksek (%9.9) olarak bulunmuştur (15). Cinsiyet farklılığı, erkeklerde sigara içme oranının daha yüksek olması, çalışma hayatında toz ve partiküllerle daha çok karşılaşmasıyla açıklanabilir.

Çalışmamızda ortalama sigara içim miktarı KOAH'lı hastalarda daha fazlaydı. KOAH gelişme riski sigaraya başlama yaşı ve ortalama sigara paket yılı ile artmaktadır. KOAH'ın 20 paket yıldan fazla sigara içenlerde sıklığının arttığı bildirilmektedir (16). Ayrıca sigara içmeyen bireylerde 35 yaşından sonra yıllık FEV₁ kaybı ortalama 30 mL iken sigara içenlerde bu azalma iki kat daha fazla olup, duyarlı sigara içicileri olarak adlandırılan grupta ise yıllık FEV₁ kaybı 120-150 mL'ye ulaşmaktadır (16). Bizim çalışmamızda da bu literatür verileriyle uyumlu olarak, KOAH'ı olmayan sigara içicisi gruba göre KOAH'lı olgularda ortalama paket yılının daha fazla ve ortalama FEV₁ değeri daha düşük olarak bulundu.

KOAH'lı hastalarda sekonder polisitemi arteriyel hipoksemiye ikincil olarak dokulara oksijen sunumunu artır-

mak amacıyla gelişebilir ve bu durum özellikle de sigara içmeye devam edenlerle FEV₁ değeri %50'nin altında olan olgularda daha belirgindir. Yine sigara içen olgularda da karbonmonoksite bağlı eritropoetin artışına ikincil polisitemi geliştiği bilinmektedir (17-20). Çalışmamızın sonuçlarına baktığımızda KOAH'lı ve sigara içen sağlıklı olgularda polisitemili olgu olmadığı görüldü. Bu sonucun olgularımızın çoğunluğunun (%97.3) hafif-orta KOAH'lı olmasına bağlı olduğunu düşündük. KOAH'lı olgularımız ve sigara içen sağlıklı olgularımızda, sigara içmeyen sağlıklı kontrol grubuna göre ortalama hematokrit değerleri daha yüksekti ve bu fark istatistiksel analizle anlamlı ve literatürle uyumluuydu.

KOAH'ın tanısı, şiddetinin belirlenmesi, hastalık seyrinin izlenmesi ve prognozun takibi için solunum fonksiyon testleri kullanılmaktadır. Rutin uygulamada hava yolları obstrüksiyonunun değerlendirilmesinde maksimal ekspiratuvar akım hızlarının ölçümü kullanılmaktadır (21). KOAH'lı olgularda hava yolu direnci ölçümünün hava yolu çapı hakkında maksimal ekspiratuvar akım hızlarına göre daha direkt bilgiler verdiği ve bu olgularda hava yolu direncinin arttığı bilinmektedir (7). Ancak çalışmamızda, KOAH'lı olgularla sigara içen sağlıklı olgular ve kontrol grubu arasında hava yolu direnci açısından anlamlı farklılık bulunmamıştır. Raw'ın özellikle ileri derecede hava yolu obstrüksiyonu olan olgularda arttığı, buna karşın erken ve hafif hava yolu obstrüksiyonu olan olgularda Raw'ın artmasının beklenmediği bildirilmektedir (7). Bu nedenle çalışmamızda gruplar arasında ortalama Raw değeri açısından farklılık olmamasının olgularımızın çoğunluğunun hafif (n= 55) ve orta (n= 18) KOAH'lı olmasına bağlanabileceğini düşündük.

Diğer yandan Saryal ve arkadaşları bizim çalışmamızdan farklı olarak kronik hava yolu obstrüksiyonu olan hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre hava yolu direncinin arttığını bildirmişlerdir (22). Ancak bu çalışmada hasta grubu olarak KOAH'lı olgular dışında hava yolu obstrüksiyonu olan bronşektazili ve astımlı olgular

da çalışmaya dahil edilmiştir ve olgularının %59'unun orta ve ileri derecede hava yolu obstrüksiyonu vardır. Bu nedenle sonuçlarımız arasındaki farklılığın seçilen hasta grubu ve hastalık şiddetinin farklılığına bağlı olduğunu düşündük.

Wagner ve arkadaşları maksimal ekspiratuar akım hızları normal olan asemptomatik sigara içicilerinde periferik hava yolu direncini normalden yüksek bulmuşlardır ve bu artıştan küçük hava yollarındaki inflamasyonu sorumlu tutmuşlardır (23). Bizim çalışmamızda sigara içen sağlıklı olgularda ve sigara içmeyen sağlıklı kontrol olguları arasında Wagner ve arkadaşları tarafından yapılan çalışma sonuçlarından farklı olarak hava yolu direnci açısından anlamlı farklılık bulunmadı. Wagner ve arkadaşları çalışmalarında daha az sayıda (n= 19) olguyu değerlendirmişler ve yöntem olarak bronkoskopik yolla sağ üst lobdan hava yolu direncini ölçmüşlerdir (23). Bu nedenle çalışmalarımız arasındaki farklı sonuçların hasta sayısı ve yöntemdeki farklılığa bağlı olduğunu düşündük. Çalışmamıza dahil edilen KOAH'lı, sigara içen sağlıklı olgular ve kontrol grubunda ortalama Raw değeri normalden daha yüksekti. Bu nedenle gruplar arasında Raw açısından anlamlı farklılık olmamasına yönelik diğer bir açıklama; ev içi ve ev dışı kullanılan yakıtlar ile çevresel maruziyete bağlı olarak çalışmamızda tüm gruplarda hava yolu obstrüksiyonu gelişme dahi hava yolu inflamasyonunun ve direncinin artmış olabileceğidir. Biyomass maruziyetinin hava yolu direnci üzerine etkisini göstermeye yönelik yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu görüşündeyiz.

Günümüzde Raw ölçümü için beklenen değer olarak, hasta özelliklerine göre değişmeyen farklı sabit değerler (1.5-2 cmH₂O/L/saniye ve 0.6-2.4 cmH₂O/L/saniye) kullanılmaktadır. Bu kaynakların ışığında çalışmamızda Raw için üst sınırı 2 cmH₂O/L/saniye olarak kabul ederek grupları karşılaştırdığımızda da istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulamadık. Bazı laboratuvarlar kendi gruplarında erişkin olgularda normal Raw değerinin bu değerlerden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (7, 24). Aynı düşünceden yola çıkarak gruplar arasında Raw açısından anlamlı farklılık olmamasına yönelik üçüncü bir açıklama; kullandığımız beklenen Raw değerinin toplumumuz için uygun olmayabileceğidir.

Hava yolu direncini burun, ağız ve yukarı hava yolları %50, trakea ve bronşlar %30, periferik hava yolları %20 katkı ile oluşturur (7). Çalışmamızda büyük, orta ve küçük hava yolu obstrüksiyonunu gösteren parametreler olan FEV₁, FEV₁/FVC ve FEF₂₅₋₇₅ ile Raw ve sRaw arasında korelasyon bulunmasının hava yolu direncini oluşturan unsurlara bağlı olduğunu düşündük.

Diğer yandan sRaw ile FEV₁, FEV₁/FVC ve FEF₂₅₋₇₅ arasındaki korelasyonun Raw'a göre daha kuvvetli olmasının sRaw'ın KOAH'lı olgularda daha tercih edilebilir bir parametre olduğu görüşünü desteklediği inancındayız.

Raw'ın volüm ile çarpılması sonucu elde edilen sRaw, Raw'dan farklı olarak yaş ve vücut ölçümlerinden bağımsız bir şekilde hava yolu direncinin değerlendirilmesine olanak verir (23,25-27). Klug ve arkadaşları da çalışmalarında sRaw ile yaş, boy ve kilo arasında anlamlı ilişki saptamamışlardır (28). sRaw ve Raw'ı karşılaştıran yeterli çalışma olmamasına rağmen, çeşitli kaynaklarda sRaw'ın yaş, boy ve kilodan bağımsız olması nedeniyle Raw'a göre kullanımının daha uygun olduğu belirtilmektedir (7,28). Çalışmamızda KOAH'lı olan olgularımızda sRaw düzeyi obstrüksiyonu olmayan sağlıklı ve sigara içen kontrol olgularına göre anlamlı olarak yüksek ve istatistiksel olarak farklı bulundu. Olguların FEV₁, FEV₁/FVC ve sRaw değerleri arasında anlamlı ve negatif bir korelasyon saptandı. sRaw'ın KOAH'lı olgularda sigara içen sağlıklı ve sigara içmeyen kontrol olgularına göre daha yüksek olması, hava yolu direncinin belirgin obstrüksiyonu olan olgularda arttığının bilinmesi nedeniyle beklenen ve literatürle uyumlu bir sonuçtu. Çalışmamızda ortalama sRaw düzeyi, sigara içen (11.3 ± 4.1) ve içmeyen olgularda (10.6 ± 4.4) birbirine yakındı. Bu nedenle sRaw düzeyinin sigara içen olgularda henüz akım kısıtlanması oluşmadan KOAH'ın erken tanısında kullanılmasının uygun olmayacağı inancındayız.

Genetik olarak duyarlı kişilerin uygun çevresel risk faktörleri ile uzun süre karşılaşması KOAH gelişimine neden olmaktadır. Bugüne kadar etkisi kesin olarak ispatlanmış tek genetik risk faktörü herediter AAT yetmezliğidir (29). KOAH etyolojisinde rol aldığı düşünülen diğer önemli bir gen adayı TNF- α genidir. Günümüze kadar yapılan çalışmalara bakıldığında KOAH'lı olgularda en çok araştırılan TNF- α -308 G/A polimorfizmidir. Sakao ve arkadaşları iki ayrı çalışmada Japon halkındaki sağlıklı kontrol gruplarına göre KOAH'lı olgularda TNF- α -308 G/A polimorfizminin; artmış TNF- α sitokin seviyesiyle bağlantılı olduğunu, bunun da KOAH gelişimiyle ilişkili olduğunu belirtmişlerdir (30,31). Ancak Chierakul ve arkadaşlarının Tayland popülasyonunu içeren çalışması ile Ishii ve arkadaşlarının Japon halkını içeren çalışmasında TNF- α 'nın tek nükleotid polimorfizmi ile KOAH arasında ilişki bulamamışlardır (32,33). Benzer şekilde Patuzzo ve arkadaşları ise Kafkasya halkında TNF gen kompleksinin KOAH gelişiminde rolü olmadığını belirtmişlerdir (34). Bu bulgu Ferraroti ve arkadaşlarının çalışmasıyla desteklenmiştir (35). Küçükaycan ve arkadaşları da Kafkas ırkında çalışmalarında TNF- α

-376 G/A, -308 G/A ve -238 G/A gen polimorfizmlerinin KOAH'lı olgularla kontrol grupları arasında fark saptamamışlardır (36). Biz de çalışmamızda TNF-α -308 G/A polimorfizm sıklığı açısından KOAH'lı olgularımız, sigara içen sağlıklı olgularımız ve sağlıklı kontrol grubumuz arasında anlamlı fark bulamadık.

KOAH evrelerine göre olgularımıza baktığımızda ise evre I'de %23.6 olguda TNF-α -308 G/A polimorfizmi vardı, ancak evre II ve III'te TNF-α -308 G/A polimorfizmi hiç yoktu. Bu sonucun çalışmamıza dahil edilen KOAH'lı olguların çoğunluğunun (%73.3) evre I KOAH'lı olmasına bağlı olabileceğini düşündük.

Literatürde TGF-β1'in etkilerinden bazılarının KOAH gelişimini engelleyici nitelikte olabileceğine işaret eden bazı çalışmalar vardır. Bir çalışmada TGF-β1 geninin 10. kodunda prolin allelinin KOAH'lılarda normal popülasyona göre daha az olduğu, bu allelin yüksek konsantrasyonlarda TGF-β1 seviyesiyle ilişkili ve TGF-β1'in KOAH gelişiminde koruyucu rol oynadığı öne sürülmüştür (37). Bu sonuç Celedon ve arkadaşlarının yaptığı daha fazla sayıda KOAH'lı ve kontrol olguları içeren bir çalışmayla desteklenmiştir (38). Aksine TGF-β1 -509 C/T, 869 T/C, 915 G/C polimorfizmleri ile FEV₁ kayıp hızına bakılan bir çalışmada ise anlamlı bir sonuç bulunamamıştır (38). Su ve arkadaşları ise Japon halkında yaptıkları bir çalışmada TGF-β1 -800A/-509C haplotipinin KOAH'a yatkınlığı artıran bir faktör olduğunu göstermişlerdir (39). Biz çalışmamızda TGF-β1 800 G/A polimorfizm sıklığı açısından KOAH'lı olgularımız, sigara içen sağlıklı olgularımız ve sağlıklı kontrol grubumuz arasında anlamlı fark saptamadık. KOAH olgularının evreleri arasında da TGF-β1 800 G/A polimorfizmi açısından da bir farklılık yoktu. TGF-β1 800 G/A polimorfizminin araştırıldığı çalışmalar, farklı alleller çalışılmış olmakla birlikte Japonya, Amerika ve Avrupa halkını kapsamaktadır. Bizim toplumumuza benzer özellikler taşıdığı düşünülen Kafkas ırkında yapılan Ogawa ve arkadaşlarının çalışma sonuçları ise bizim sonuçlarımızla uyumludur (40). Bu sonuçların ışığında TGF-β1 800 G/A polimorfizminin toplumumuzdaki KOAH'lı olgular için bir risk faktörü olmayacağı öngörülebilir. Kesin sonuçlar için daha fazla sayıda çalışmaya gereksinim vardır.

Sonuç olarak; çalışmamızda KOAH olgularında spesifik hava yolu direncinin sağlıklı kontrol olgularından daha yüksek olduğu saptanmıştır. Olguların FEV₁, FEV₁/FVC ve sRaw değerleri arasında anlamlı ve negatif bir korelasyon bulunmuştur. Bu nedenle KOAH'lı hastalarda hava yolu direncini değerlendirirken Raw'dan ziyade sRaw'ın kullanılmasının daha uygun olacağı görüşündeyiz.

Ayrıca çalışmamızda KOAH'lı olgularla sigara içen sağlıklı olgular ve kontrol grubu arasında TNF-α 308 G/A ve TGF-β1 G/A gen polimorfizmleri açısından da farklılık bulunamamıştır. Bu nedenle TNF-α 308 G/A ve TGF-β1 800 G/A gen polimorfizmlerinin toplumumuzda KOAH gelişimine katkısının önemli derecede olmadığı öngörülebilir. KOAH ve TNF-α 308 G/A ve TGF-β1 800 G/A gen polimorfizmlerine ve toplumumuz için uygun Raw ve sRaw değerlerine yönelik çok sayıda hasta grupları ile yapılacak yeni çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

ÇIKAR ÇATIŞMASI

Bu çalışma Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırma Projeleri desteği ile yürütülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. *PLoS Med* 2006; 3: e442.
2. Petty TL. Chronic obstructive pulmonary disease. In: Hanley ME, Welsh CH (eds). *Current Diagnosis and Treatment in Pulmonary Medicine Lange Medical Books*. MacGraw-Hill Companies, 2003: 82-91.
3. Stanford AJ, Weir TD, Pare PD. Genetic risk factors for chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 1997; 10: 1380-91.
4. Barnes PJ, Shapiro SD, Pauwels RA. Chronic obstructive pulmonary disease: molecular and cellular mechanisms. *Eur Respir J* 2003; 22: 672-88.
5. Zhang S, Wang C, Xi B, Li X. Association between the tumour necrosis factor-α -308 G/A polymorphism and chronic obstructive pulmonary disease: an update. *Respirology* 2011; 16: 107-15.
6. Gong Y, Fan L, Wan H, Shi Y, Shi G, Feng Y, et al. Lack of association between the TGF-β(1) gene and development of COPD in Asians: a case-control study and meta-analysis. *Lung* 2011; 189: 213-23.
7. Kaminsky DA. Spirometry and related tests. In: Ruppel GL (ed). *Manual of Pulmonary Function Testing*. 9th ed. Chapter 2, Mosby Elsevier, 2009: 36-89.
8. Global Initiative for chronic obstructive pulmonary disease updated, chapter 1 (definition), 2007: 2-6.
9. Pellegrino R, Viegi G, Brusasco V, Crapo RO, Burgos F, Casaburi R, et al. Interpretative strategies for lung function tests. *Eur Respir J* 2005; 26: 948-68.
10. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, et al; ATS/ERS Task Force. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J* 2005; 26: 319-38.
11. Fishman AP, Elias JA, Fishman JA, Grippi MA, Senior RM, Pack AI, et al. *Physiological principles of normal lung function*. In: Fishman AP (ed). *Fishman's Pulmonary Diseases and Disorders*. 4th ed. Vol. I. China: Mc Graw Hill Companies, 2008: 147-60.

12. DuBois AB. Significance of measurement of airway resistance. In: *International Symposium on Body Plethysmography*, Nijmegen, the Netherlands, 1968. Vol. 4. Progr Res Basel, Switzerland: Karger, Res 1969; 109-15.
13. Matthys H, Orth U. Comparative measurements of airway resistance. *Respiration* 1975; 32: 121-34.
14. Murray CJL, Lopez AD. Global health statistics: a compendium of incidence, prevalence and mortality estimates for over 200 conditions. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 1996.
15. Kocabaş, A, Hancıoğlu A, Türkyılmaz S, Ünalın T, Umut S, Çakır B, et al. Prevalence of COPD in Adana, Turkey (BOLD-Turkey Study). *Proceedings of the American Thoracic Society* 2006; 3: A543.
16. Shapiro SD, Snider GL, Rennard SI. Chronic bronchitis and emphysema. In: Mason RJ, Murray JF, Broaddus VC, Nadel JA (eds). *Murray and Nadel's Textbook of Respiratory Medicine*. 4th ed. Section J-Chapter 36. Vol 1. USA: Elsevier Saunders, 2005: 1115-68.
17. Calverley PM, Leggett RJ, McElderry L, Flenley DC. Cigarette smoking and secondary polycythemia in hypoxic cor pulmonale. *Am Rev Respir Dis* 1982; 125: 507-10.
18. Wedzicha JA, Cotes PM, Empey DW, Newland AC, Royston JP, Tam RC. Serum immunoreactive erythropoietin in hypoxic lung disease with and without polycythaemia. *Clin Sci* 1985; 69: 413-22.
19. Goldsmith JR, Landaw SA. Carbon monoxide and human health. *Science* 1968; 162: 1352-9.
20. Tanabe N, Ohnishi K, Fukui H, Ohno R. Effect of smoking on the serum concentration of erythropoietin and granulocyte-colony stimulating factor. *Intern Med* 1997; 36: 680-4.
21. Quanjer PH, Tammeling GJ, Cotes JE, Pedersen OF, Peslin R, Yernault JC. Lung volumes and forced ventilatory flows. *Eur Respir J Suppl* 1993; 16: 5-40.
22. Saryal SB, Karabıyıkoglu G, Akkoca Ö, Çelik G. Kronik hava-yolları obstrüksiyonunda ventilatuvar parametrelerle hava yolları rezistansı ve iletimi arasındaki ilişki. *Solunum Hastalıkları* 1995; 6: 371-82.
23. Wagner EM, Bleecker ER, Permutt S, Liu MC. Peripheral airways resistance in smokers. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146: 92-5.
24. Pride NB. Airflow resistance. In: Hughes JM, Pride NB (eds). *Lung Function Tests: Physiological Principles and Clinical Applications*. 1st ed. London: Harcourt Brace and Company Limited, 1999: 27-43.
25. Doershuk CF, Fisher BJ, Matthews LW. Specific airway resistance from the perinatal period into adulthood. Alterations in childhood pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* 1974; 109: 452-7.
26. Dab I, Alexander F. Lung function measured with a whole body plethysmograph: standard values for children and young adults. *Acta Paediatr Belg* 1979; 32: 259-67.
27. Bisgaard H, Nielsen KG. Plethysmographic measurements of specific airway resistance in young children. *Chest* 2005; 128: 355-62.
28. Klug B, Bisgaard H. Specific airway resistance, interrupter resistance, and respiratory impedance in healthy children aged 2-7 years. *Pediatr Pulmonol* 1998; 25: 322-31.
29. Stoller JK, Aboussouan LS. Alpha1-antitrypsin deficiency. *Lancet* 2005; 365: 2225-36.
30. Sakao S, Tatsumi K, Igari H, Shino Y, Shirasava H, Kuriyama T. Association of tumor necrosis factor-alpha gene promoter polymorphism with the presence of chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 420-2.
31. Sakao S, Tatsumi K, Igari I, Watanabe R. Association of tumor necrosis factor-alpha gene promoter polymorphism with low attenuation areas on high-resolution CT in patients with COPD. *Chest* 2002; 122: 416-20.
32. Chierakul N, Wongwisutikul P, Vejbaesya S, Chotvilaiwan K. Tumor necrosis factor-alpha gene promoter polymorphism is not associated with smoking-related COPD in Thailand. *Respirology* 2005; 10: 36-9.
33. Ishii T, Matsuse T, Teramoto S, Matsui H, Miyao M, Hosoi T, et al. Neither IL-1beta, IL-1 receptor antagonist, nor TNF-alpha polymorphisms are associated with susceptibility to COPD. *Respir Med* 2000; 94: 847-51.
34. Patuzzo C, Gile LS, Zorzetto M, Trabetti E, Malerba G, Pignatti PF, et al. Tumor necrosis factor gene complex in COPD and disseminated bronchiectasis. *Chest* 2000; 117: 1353-8.
35. Ferrarotti I, Zorzetto M, Beccaria M, Gile LS, Porta R, Ambrosino N, et al. Tumour necrosis factor family genes in a phenotype of COPD associated with emphysema. *Eur Resp J* 2003; 21: 444-9.
36. Küçükaycan M, Van Krugten M, Pennings HJ, Huizinga T, Burman WA, Dentener MA, et al. Tumor necrosis factor-alpha +489G/A gene polymorphism is associated with chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Res* 2002; 3: 29.
37. Wu L, Chau J, Young RP, Pokorny V, Mills GD, Hopkins R, et al. Transforming growth factor-beta1 genotype and susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 2004; 59: 126-9.
38. Celedon JC, Lange C, Raby BA, Litonjua AA, Palmer LJ, DeMeo DL, et al. The transforming growth factor-beta 1 (TGF-β1) gene is associated with chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *Hum Mol Genet* 2004; 13: 1649-56.
39. Su ZG, Wen FQ, Feng YL, Xiao M, Wu XL. Transforming growth factor-beta1 gene polymorphisms associated with chronic obstructive pulmonary disease in Chinese population. *Acta Pharmacol Sin* 2005; 26: 714-20.
40. Ogawa E, Ruan J, Connett JE, Anthonisen NR, Pare PD, Sandford AJ. Transforming growth factor-beta1 polymorphisms, airway responsiveness and lung function decline in smokers. *Respir Med* 2007; 101: 938-43.