

YETİŞKİN ASTIMLI HASTA SERUMLARINDA LİPİD PEROKSİDASYONU VE ANTİOKSİDAN ENZİM AKTİVİTELERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Neriman AKSU¹, Ferah ARMUTCU¹, Levent KART², Ahmet GÜREL¹, Nejat DEMİRCAN³, Murat ÜNALACAK³

¹ Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, ZONGULDAK

² Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, ZONGULDAK

³ Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Aile Hekimliği Anabilim Dalı, ZONGULDAK

ÖZET

Son yıllarda, pek çok hastalığın patogeneğinde veya sonucunda giderek artan bir şekilde, serbest radikal hasarı ve antioksidan savunma sistemlerindeki yetersizlik suçlanmaktadır. Bu hastalıklardan biri de bronş astımıdır. Bu çalışmada oksidatif hasarın ve antioksidan sistemdeki değişimlerin astımdaki düzeylerinin incelenmesi amaçlandı. Hafif-orta şiddette astımlı 70 hasta ve kontrol grubu olarak 70 sağlıklı erişkin bu amaçla çalışmaya alındı. Hasta ve kontrol grubu serumlarında tiyobarbitürik asitle reaksiyon veren madde (TBARS) ve nitrik oksit (NO) düzeyleri ile ksantin oksidaz (XO), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) aktiviteleri ölçüldü. Hasta grubunda serum TBARS ($p < 0.01$) ve NO ($p < 0.05$) düzeyleri ile XO ($p < 0.01$) aktivitesi kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Hasta grubu serum SOD ($p < 0.01$) ve GSH-Px ($p < 0.05$) enzim aktiviteleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulundu. Bu sonuçlar bronşial astımlı hastalarda oksidatif ve nitrozatif stresin lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzimlerde değişikliklere neden olduğunu düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: antioksidan savunma sistemi, bronş astımı, lipid peroksidasyonu, oksidatif stres

SUMMARY

Evaluation of Lipid Peroxidation and Antioxidant Enzyme Activities in the Serum of Adult Asthma Patients

In recent years, free radical damage and insufficiency of antioxidant defense system has been gradually accused of the pathogenesis of many diseases. One of these diseases is bronchial asthma. In this study we aimed to investigate the role of oxidative damage and antioxidant system in the pathogenesis of bronchial asthma. Seventy mild-moderate asthmatic adults and seventy healthy adults were enrolled in the study for this aim. The levels of thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS) and nitric oxide (NO) and the activities of xanthine oxidase (XO), superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) were measured in serum of patients and control subjects. The mean TBARS ($p < 0.01$) and NO ($p < 0.05$) values and XO ($p < 0.01$) activity were significantly higher in the serum of the patients compared to the control group. The mean values of serum SOD ($p < 0.01$) and GSH-Px ($p < 0.05$) enzymatic activities were significantly lower in the patients compared to the control group. These results suggest that oxidative and nitrosative stress result in lipid peroxidation and alterations in antioxidant enzymes in asthma patients.

Key words: antioxidant defence system, bronchial asthma, lipid peroxidation, oxidative stress

Yazışma adresi: Doç. Dr. Levent Kart, Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, 67600 Zonguldak
Tel: (0372) 257 13 66

e-posta:kartlevent@yahoo.co.uk

Alındığı tarih: 04.10.2006, revizyon sonrası alınma: 02.04.2007, kabul tarihi: 08.08.2007

GİRİŞ

Bronş astımı solunum yollarının etyolojisi bilinmeyen, kronik inflamatuvar bir hastalıdır⁽¹⁾. Geri dönüşümlü solunum yolu obstrüksiyonu, solunum yollarının çeşitli uyaranlara karşı aşırı duyarlılık göstermesi, öksürük, nefes darlığı ve wheezing ile karakterize akut veya kronik bir inflamasyon durumudur⁽²⁾. Proksimal hava yollarının inflamasyonu astımda hava yolu daralmasının tekrarlayan nedenidir. Astımın patogenezinde nöral mekanizmalar, inflamatuvar hücreler, mediatörler (trombosit aktive eden faktör, lökotrien ve prostaglandinler), arasıdonik asit yolunun intrinsik anomalileri ve düz kaslar arasındaki etkileşimler nedeniyle; multifaktöriyel ve ayrıca çevresel etkenlerin katkıda bulunduğu kompleks, multigenik olaylar rol oynamaktadır⁽³⁾.

Serbest oksijen radikalleri; son yörüngelerinde eşlenmemiş elektronları ile oksidasyon başlatma kapasitesine sahip stabil olmayan bileşiklerdir. Biyolojik sistemler sürekli olarak oksidanlara maruz kalır. Bu metabolik reaksiyonlardan endojen olarak (solunum sırasında mitokondrial elektron transportu veya fagositlerin aktivasyonu ile olduğu gibi) veya eksojen olarak (hava kirleticilerin solunması veya sigara içimi sırasında) oluşabilir^(4,5). Son yıllarda yapılan çalışmalarda astım patogenezinde serbest oksijen radikallerinin rol oynadığı gösterilmiştir. İnflamasyon sıklıkla reaktif oksijen türevlerinin (ROT) oluşumunda bir artışla ilişkilidir. Astımda, hava yollarındaki biyokimyasal çevre, serbest radikal aracılı reaksiyonlar için uygundur. Oksidatif stresin inflamatuvar respiratuvar hastalığın başlaması ve ilerlemesine katkıda bulunduğu ileri sürülmektedir. Oksidanlardan korunmak için organizma iyi gelişmiş antioksidan sistemlere sahiptir. Bu sistemler serbest radikal oluşumunu önleyerek veya oluşan radikalleri bağlayıp aktivitelerini yok ederek etki gösterirler. En önemli endojen antioksidanlar mitokondrial sitokrom oksidaz, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidazdır (GSH-Px). Astımda antioksidan savunma mekanizmalarının da etkilendiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir^(1,3,6,7). Lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktiviteleri astımlı hastaların serum ve eritrosit örneklerinde çalışılmasına rağmen serumda NO ve XO düzeyleri ile ilgili çalışmaların sayısı yeterli değildir.

Bu çalışmada yetişkin bronş astımlı hastalar ile sağlıklı kontrol grubu serum örneklerinde, lipid peroksidasyonu belirteci; tiyobarbitürik asit ile reaksiyon veren maddelerden (TBARS) olan malondialdehid (MDA) düzeylerinin yanı sıra, oksidatif strese yol açan nitrik oksit (NO) düzeyleri ve ksantin oksidaz (XO) aktivite düzeyleri araştırıldı. Ayrıca SOD ve GSH-Px aktivite düzeylerine bakılarak antioksidan savunma

sisteminde meydana gelen olası değişiklikler kontrol grubu ile karşılaştırılarak değerlendirildi.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Polikliniğine başvuran 21-56 (36.7±5.32) yaş arası, 32 erkek, 38 bayan toplam 70 astımlı hasta ile 24-49 yaş arası (34.6±6.08), 34 erkek, 36 bayan toplam 70 sağlıklı erişkin kontrol grubu olarak alındı.

Hafif intermittant, hafif persistan ve orta persistan astımlı hastalar çalışmaya alındı. Astımlı hastalar basamak tedavisine uygun tedavi almaktaydılar. Astım dışında serbest radikal oluşumunu etkileyebilecek herhangi bir akut veya kronik hastalığı olanlar ve sigara içenler çalışma kapsamı dışında bırakıldı.

Kontrol grubu, çalışmaya alındıkları dönemde herhangi bir ilaç kullanmayan, akut veya kronik enfeksiyonları olmayan, sigara içmeyen ve alkol alışkanlığı olmayan bireylerden seçildi.

Hastalardan ve kontrol grubundan jelli seperatör tüplere alınan venöz kan örnekleri 3500 rpm'de, 5 dakika santrifüj edildikten sonra ayrılan serum örnekleri, TBARS, NO, XO, SOD ve GSH-Px analizi için -40 °C'de derin dondurucuya kaldırıldı ve çalışma gününde oda ısısında bekletilerek çözüldü.

Hasta ve kontrol grubunda TBARS (MDA olarak) ölçümü için, Draper ve Hadley'in çift ısıtma metodu kullanıldı⁽⁸⁾. Metodun prensibi MDA ile tiyobarbitürik asit (TBA) reaksiyonu sonucu oluşan pembe renk absorbansının spektrofotometrik ölçümüne dayanmaktadır. Serum TBARS konsantrasyonları, spektrofotometrede (Shimadzu UV-1601 Japan) 532 nm'de köre karşı numunenin absorbans değerleri okunduktan sonra, MDA-TBA kompleksinin molar ekstinsiyon katsayısı ($1.56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$) kullanılarak hesaplandı. NO düzeyleri Griess reaksiyonu⁽⁹⁾, XO aktivitesi Prajda ve Weber'in⁽¹⁰⁾, SOD aktivitesi Sun ve arkadaşlarının metodunda⁽¹¹⁾; Durak ve arkadaşlarının yaptığı modifikasyona⁽¹²⁾ ve GSH-Px aktivitesi de Paglia ve arkadaşlarının metoduna göre çalışıldı^(8,13).

Toplanan veriler SPSS 11.0 paket istatistik programında parametrik ikili karşılaştırmalar için Student's t testi kullanılarak değerlendirildi. Sonuçlar "aritmetik ortalama ± standart sapma" olarak verildi. P < 0.05 değeri istatistiksel anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.

BULGULAR

Bu çalışmaya 70 astımlı hasta ve 70 sağlıklı kontrol alındı. Tüm olguların serum örneklerinde TBARS ve NO düzeyleri ile XO, SOD ve GSH-Px enzim aktiviteleri çalışıldı. Tabloda her iki grubun bu parametrelere ait ortalama \pm standart sapma ve p değerleri yer almaktadır.

Tablo I: Hasta ve kontrol grubuna ait ortalama TBARS, NO, XO, SOD, GSH-Px sonuçları ve p değerleri

	Kontrol grubu	Astım grubu	p değeri
TBARS (mol/L)	1.37 \pm 0.22	1.83 \pm 0.34	p < 0.01
NO (mol/L)	77.3 \pm 14.2	83.9 \pm 16.4	p < 0.05
XO (U/mL)	0.26 \pm 0.07	0.34 \pm 0.12	p < 0.01
SOD (U/mL)	5.25 \pm 1.17	3.98 \pm 0.94	p < 0.01
GSH-Px (U/L)	36.57 \pm 9.42	32.12 \pm 8.93	p < 0.05

TBARS: tiyobarbitürik asitle reaksiyon veren madde, NO: nitrik oksit, XO: ksantin oksidaz, SOD: süperoksit dismutaz, GSH-Px: glutatyon peroksidaz

Astım grubunda TBARS ve NO düzeyleri ile XO aktivite düzeyleri, kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu (sırası ile; p < 0.01, p < 0.05 ve p < 0.01).

SOD ve GSH-Px aktivite düzeyleri ise hasta grubunda kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük bulundu (sırası ile p < 0.01, p < 0.05).

TARTIŞMA

Kronik inflamatuvar bir hastalık olan astımda, inflamasyon sıklıkla ROT oluşumunda bir artışla ilişkilidir. Astımlıların havayollarına toplanan inflamatuvar hücreler, ROT oluşturmak için olağanüstü bir kapasiteye sahiptir. Astımda oksidan patlama (burst) pek çok inflamatuvar yolun eş zamanlı etkisi ile başlatılan kendi kendini üreten nonspesifik bir süreçtir. Toplanan inflamatuvar hücrelere ek olarak epitelyal hücreler gibi havayolunu oluşturan hücreler ROT'nin potansiyel kaynağıdır. Endojen kaynaklar dışında, hava kirliliği yapan maddeler gibi bazı çevresel faktörler de hava yollarında ROT oluşumunun aşırı derecede artışına neden olabilir⁽¹⁾. Son unda efektör/pro-inflamatuvar hücrelerden salınan mediatörler ve oksidanların astımdaki hasar ve inflamasyondan sorumlu olduğu düşünülmektedir⁽³⁾.

ROT'ne bağlı doku hasarı oluşumunda en önemli mekanizma hücre zarlarında bulunan lipidlerin peroksidasyona uğramasıdır⁽¹⁴⁾. Oksidanlar, çoklu doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyonunu başlatırlar⁽¹⁵⁾. Lipid peroksidasyonu sonucunda; MDA,

alkoller, etan ve pentan gibi ürünler açığa çıkmakta olup MDA lipid peroksidasyonunun göstergesi olarak kullanılan parametrelerden biridir⁽¹⁶⁾. Rahman⁽⁴⁾, Nadeem ve arkadaşları⁽¹⁷⁾ astımlı hastalarda plazma TBARS-MDA düzeylerinin kontrollere göre daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Yine Wood ve arkadaşları⁽¹⁸⁾ astımlı hastalarda lipid peroksidasyon ürünlerini yüksek olarak bulmuşlar, Mohan ve arkadaşları⁽¹⁹⁾ astımlı hastalarda lipid peroksidasyon ürünlerinin, plazma konsantrasyonlarında görülen artışın serbest radikal üretiminin bir göstergesi olduğunu bildirmişlerdir. Astımlı hastaların serumlarında yapılan diğer çalışmaların bir çoğunda da MDA düzeyleri yüksek bulunmuştur⁽²⁰⁻²³⁾. Bizim çalışmamızda, bu çalışmalarda olduğu gibi hasta grubunda TBARS seviyelerinin kontrol grubundan yüksek (p<0.01) olduğu bulundu. Bu sonuçlar bize hastalığın temel unsuru olan kronik inflamasyonun ROT artışına ve sonuçta lipid peroksidasyonuna neden olduğunu düşündürmektedir. Lipid peroksidasyonundaki artışın bir diğer önemli nedeni de, endojen antioksidanlar ve enzim aktivitelerinin yetersizliği yüzünden oksidan yükün karşılanamaması olabilir.

Endojen NO sentezi, astımdaki oksidatif stres esnasında inflamasyon ve hasara karşı erken fizyolojik savunma mekanizmalarından birisidir. Bu erken antiinflamatuvar fonksiyonuna rağmen, persistan yükselmiş NO sentezi doku hasarına katkıda bulunur⁽³⁾. Astımlıların alt solunum yollarında ve çıkardığı havada NO konsantrasyonu sağlıklı bireylere göre üç kat daha fazla bulunmuştur⁽²⁴⁻²⁷⁾. Artmış iNOS aktivitesi yüzünden epitel hücreleri yüksek NO seviyeleri için anahtar rol oynamaktadır⁽³⁾. Astımlı hastaların plazmasında yapılan pek çok çalışmada NO düzeyleri yüksek bulunmuştur^(17,28,29). Havayollarındaki artmış NO; hiperemi, plazma eksudasyonu, mukus sekresyonu ve indirekt olarak eozinofilik inflamasyondan sorumlu olan lenfositlerin proliferasyonunda artışa neden olabilir⁽³⁰⁾. Nitrik oksit, astımlıların solunum havasında sık çalışılmış ise de periferik kan çalışmaları sınırlı sayıdadır. Biz bu çalışmada astımlı hastaların serum NO seviyelerinin kontrol grubundan daha yüksek düzeylerde olduğunu (p<0.05) bulduk. Bu bulgu bize astımda artmış kronik inflamasyonun rol oynadığını düşündürmektedir. Sitolik ksantin oksidaz sistemi serbest radikal kaynaklarından biridir⁽³¹⁾. Misawa ve Arai⁽³²⁾, deney hayvanları üzerinde inhalan ksantin/ksantin oksidaz kullanımının inflamasyonun bir göstergesi olan vasküler geçirgenliği artırdığını belirlemişlerdir. Andrushkevich ve arkadaşları⁽³³⁾ astımlı hastaların lenfosit ve eozinofillerinde XO aktivitesini kontrollere göre yüksek bulmuşlardır. Literatürde astımlı hastaların periferik kanında XO aktivitesini

belirleyen çalışmalar çok kısıtlıdır. Bu çalışma hasta grubu serumlarında XO aktivite düzeylerinin kontrollere oranla daha yüksek ($p < 0.01$) olduğunu gösterdi. Bu bulgu bize astımdaki inflamasyona, ksantin/ksantin oksidaz sisteminin serbest radikal üretimi ile katkıda bulunduğunu ve artmış lipid peroksidasyonu etkenlerinden birisi olabileceğini düşündürmektedir.

Astımla ilgili yapılan çalışmalarda antioksidan düzeylerindeki değişiklikler farklı olarak rapor edilmiştir. Bunların nedeni antioksidan düzeyinin, savunma cevabı yüzünden artması, oksidanlar tarafından nötralize olması nedeniyle azalması veya yeterli rezerv varsa değişmemiş olarak bulunması olabilir⁽¹⁷⁾. Antioksidan enzimlerin en önemlisi SOD olup, intrasellüler ve ekstrasellüler SOD aktivitesi astımda azalmıştır⁽²⁾. Astımlı hastalarda BAL sıvısı hücreleri, bronş epitel hücreleri ve eritrositlerde Cu-Zn SOD aktivitesi kontrol grubundan düşük bulunmuştur⁽³⁴⁻³⁶⁾. Bazı çalışmalarda ise eritrosit SOD aktivitesi kontrol grubundan yüksek bulunmuştur ve bu yükselmenin artmış oksidatif strese karşı kompensatuar bir mekanizma sonucunda olduğu ileri sürülmüştür^(17,22). Biz de çalışmamızda serum SOD aktivitesini kontrol grubundan daha düşük olduğunu ($p < 0.01$) bulduk. Bu bulgu bize astımda SOD ve antioksidan savunma yetersizliğinin patogeneizde rol oynadığını veya savunma esnasında sürekli tüketim ve sonuçta enzim sentezinde azalma meydana geldiğini düşündürmektedir. GSH-Px toksik lipid peroksidasyon ürünlerinin ve H_2O_2 'in kaldırılmasında önemli rol oynayan bir diğer antioksidan enzimdir⁽¹⁷⁾. Azalmış GSH-Px aktivitesi astımda iyi dökümanite edilmiştir. Nadeem ve arkadaşları eritrosit ve lökosit⁽¹⁷⁾, Hasselmark ve arkadaşları trombosit⁽³⁷⁾, Mak ve arkadaşları ise eritrosit⁽³⁶⁾ GSH-Px aktivitesini kontrole göre düşük bulmuşlardır. Bu çalışmada serum GSH-Px aktivitesinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu ($p < 0.05$) bulduk. Bu bulgu bize astımlı hastalarda GSH-Px aktivitesinin antioksidan savunma esnasında azalmış olabileceğini veya yetersizlik nedeniyle inflamasyonda bir artışa neden olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak astımda oksidatif stres olduğu ve bunun sonucunda lipid peroksidasyonunun arttığı, oksidan ve antioksidan dengede değişiklikler olduğu, oksidan strete ve dolayısı ile lipid peroksidasyonundaki bu artışa inflamatuvar hücre infiltrasyonunun yanı sıra, ksantin oksidaz aktivitesindeki artışın ve nitrik oksit gibi reaktif nitrojen türevlerinin de katkı yapabileceği söylenebilir. Astımda antioksidan savunma sistemi zayıflamış, olasılıkla endojen antioksidanların tüketiminde artış ve serbest radikal etkisine karşı koyan antioksidan enzimlerin aktivitelerinde azalma oluşmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Dworski R. Oxidant stress in asthma. *Thorax* 2000; 55: 51- 3.
2. McBride ED, Koenig QJ, Luchtel LD, Williams VP, Handerson RW. Inflammatory effects of ozone in the upper airways of subjects with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 149: 1192- 7.
3. Andreadis AA, Hazen SL, Comhair SAA, Erzurum SC. Oxidative and nitrosative events in asthma. *Free Radic Biol Med* 2003; 35: 213- 25.
4. Rahman I, Morrison D, Donaldson K, MacNee W. Systemic oxidative stres in asthma, chronic obstructive pulmonary disease, and smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 1055- 60.
5. Rahman I, Smith CA, Lawson MF, Harrison DJ, MacNee W. Induction of gamma-glutamylcysteine synthetase by cigarette smoke is associated with AP-1 in human alveolar epithelial cells. *FEBS Lett* 1996; 396: 21- 5.
6. Henricks PAJ, Nijkamp FP. Reactive oxygen species as mediators in asthma. *Pulm Pharmacol Ther* 2001; 14: 409- 21.
7. Halliwell B. Free radicals, antioxidant and human disease. Curiosity, cause or consequence ? *Lancet* 1994; 344: 721- 4.
8. Draper HH, Hadley M. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1990; 186: 421- 31.
9. Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by a kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem* 1990; 36: 1440- 3.
10. Prajda N, Weber G. Malignant transformation-linked imbalance: decreased XO activity in hepatomas. *FEBS Lett* 1975; 59: 245- 9.
11. Sun Y, Oberley LW, Ying L. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34: 497- 500.
12. Durak I, Yurtaslan Z, Canbolat O, Akyol O. A methodological approach to superoxide dismutase (SOD) activity assay based on inhibition of nitroblue tetrazolium (NBT) reduction. *Clin Chim Acta* 1993; 214: 103- 4.
13. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 1967; 70: 158- 70.
14. Şahin Ü, Tahan V, Akkaya A. Primer akciğer kanserlerinde lipid peroksidasyonu ve eritrosit antioksidan enzim aktivitesi. *Tüberküloz ve Toraks* 1999; 47: 31- 3.
15. Petruzzelli S, Hietanen E, Barstch H. Lipid peroxidation in cigarette smokers and lung cancer patients. *Chest* 1990; 98: 930- 5.
16. Demircin G, Öner A. Serbest radikaller, reaktif oksijen molekülleri ve oksijen hasarı. *Klinik Bilimler* 1998; 4: 439- 45.
17. Nadeem A, Chhabra SK, Masood A, Raj HGJ. Increased oxidative stres and altered levels of antioxidants in asthma. *Allergy Clin Immunol* 1990; 111: 72- 8.
18. Wood LG, Fitzgerald, DA, Gibson, PG. Lipid peroxidation as determined by plasma isoprostanes is related to disease severity in mild asthma.

- Lipids 2000; 35: 967- 74.
19. Mohan IK, Das UN. Oxidant stres, antioxidants, nitric oxide and essential fatty acids in bronchial asthma. *Med Sci Res* 1997; 25: 307-9.
 20. Tuğ T, Terzi SM, Sarı N, Özdemir N. Akut atak ve stabil dönemdeki astımlı hastalarda lipid peroksidasyonu ve eritrosit katalaz düzeylerinin değerlendirilmesi. *Solunum* 2004; 6: 220- 5.
 21. Mihmanlı A, Güneylıoğlu D, Özşeker F, Arslan S, Özgel M, Akkaya E. Astımlı hastalarda serbest oksijen radikalleri ve antioksidanların aktiviteleri. *Toraks* 2003; 4: 264- 8.
 22. Çalıkoğlu M, Ünlü A, Bilgin R, Tamer L, Atış S, Ulubaş B ve ark. Stabil astımlı hastalarda serumda lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim aktiviteleri. *Solunum* 2002; 4: 458- 62.
 23. Özaras R, Tahan V, Türkmen S, Talay F, Beşirli K, Aydın G, et al. Changes in malondialdehyde in bronchoalveolar fluid and serum by the treatment of asthma with inhaled steroid and beta₂-agonist. *Respirology* 2000; 5: 289- 92.
 24. Dweik RA, Comhair SA, Gaston B, Thunnissen FB, Farver C, Thomassen MJ et al. NO chemical events in the human airway during the immediate and late antigen-induced asthmatic response. *Proc Natl Acad Sci* 2001; 98: 2622- 7.
 25. Dweik RA, Lawkowski D, Abu-Soud HM, Kaneko F, Hutte R, Stuehr DJ et al. Nitric oxide synthesis in the lung. Regulation by oxygen through a kinetic mechanism. *J Clin Invest* 1998; 101: 660- 6.
 26. Persson MG, Zetterstrom O, Agrenius V, Ihre E, Gustafsson LE Single-reath nitric oxide measurements in asthmatic patients and smokers. *Lancet* 1994; 343: 146- 7.
 27. Guo FH, Comhair SA, Zheng S, Dweik RA, Eissa NT, Thomassen MJ et al. Molecular mechanism of increased nitric oxide (NO) in asthma: evidence for transcriptional and post-translational regulation of NO syntesis. *J Immunol* 2000; 164: 5970- 80.
 28. Ceylan E, Aksoy N, Gencer M, Vural H, Keleş H, Selek S. Evaluation of oxidative- antioksidative status and the L- arginine nitric oxide pathway in astmatic patients. *Respir Med* 2005; 99: 871- 6.
 29. Koçyiğit A, Zeyrek D, Keleş H, Köylü A. Relationship among manganese, arginase, and nitric oxide in childhood asthma. *Biol Trace Elem Res* 2004; 102: 11- 8.
 30. Barnes PJ. Nitric oxide and airway disease. *Ann Med* 1995; 27: 389- 93.
 31. Caramori G, Papi A. Oxidants and asthma. *Thorax* 2004; 59: 170-3.
 32. Misawa M, Arai H. Airway inflammation induced by xanthine/xanthine oxidase in guinea pigs. *Agents Actions* 1993; 38: 19- 26.
 33. Andrushkevich WV, Sukhanova GA, Volkova LI, Chukhnova DL. Enzymes of purine metabolism of lymphocytes and eosinophiles in bronchial asthma. *Klin Lab Diagn* 2003; 4: 42- 4.
 34. De Reave HR, Thunnissen FB, Kaneko FT. Decreased Cu, Zn-SOD activity in asthmatic airway epithelium: correction by inhaled corticosteroid in vivo. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 1997; 272: 148- 54.
 35. Smith LJ, Shamsuddin M, Sporn PHS. Reduced superoxide dismutase in lung cells of patients with asthma. *Free Rad Biol Med* 1997; 22: 1301-7.
 36. Mak JCW, Leung HCM, Ho SP, Law BKW, Lam KW. Systemic oxidative and antioxidative status in Chinese patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114: 260- 4.
 37. Hasselmark L, Malmgren R, Unge G, Zetterström O. Lowered platelet glutathione peroxidase activity in patients with intrinsic asthma. *Allergy* 1990; 45: 523- 7.