

**KRONİK OBSTRÜKTİF AKCİĞER HASTALIĞINDA FENOTİPLERE GÖRE KAN BİYOBELİRTEÇLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**
**COMPARISON OF BLOOD BIOMARKERS WITH PHENOTYPES IN CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY
DISEASE**

Pınar MUTLU¹, Nilüfer AYLANÇ², N.Arzu MİRİCİ¹, Merve İlçin GÜVEN¹

¹Çanakkale 18 Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları AD, Çanakkale

²Çanakkale 18 Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyoloji AD, Çanakkale

ÖZ

Amaç: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH)'nda hava yolu inflamasyonu, biyobelirteçler kullanılarak ölçülebilir. Bu çalışma, sistemik inflamasyonun biyobelirteçlerini kullanarak KOAH'ın heterojenliğini araştırmak için yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem: 19 KOAH'lı hastanın toraks bilgisayar tomografisi amfizem baskın ve kronik bronşit baskın olmasına göre değerlendirildi ve kan biyobelirteçleriyle karşılaştırıldı.

Bulgular: Çalışma grubunun yaş ortalaması 72,1±8,0 yıldı. KOAH fenotipiyle kan biyobelirteçleri arasında bir fark saptanmazken, amfizem baskın ile kronik bronşit arasında, toraks anteroposterior (AP) ve transvers çap açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. AP çap/transvers çap oranı ile TNF-alfa arasında pozitif yönlü güçlü istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptandı.

Sonuç: Yaygın kronik bronşitli hastalar ile yaygın pulmoner amfizemi olan hastalar arasında inflamatuvar biyobelirteçler açısından anlamlı fark bulunmaması, bu iki klinik ve fonksiyonel fenotipin benzer inflamatuvar bir paterne sahip olabileceğini düşündürmüştür. Sonuç olarak, KOAH'ın fenotipik ayrımı ya da tedaviye yanıtın değerlendirilmesi için biyobelirteçlerin kullanımına büyük bir ilgi vardır. Sonuçlarımızın, daha büyük klinik çalışmaların planlanmasında fayda sağlayacağını düşünüyoruz.

Anahtar kelimeler: KOAH, Fenotipler, Biyomarkırlar

ABSTRACT

Purpose: Airway inflammation in chronic obstructive pulmonary disease (COPD) can be measured using biomarkers. This study was conducted to investigate the heterogeneity of COPD using biomarkers of systemic inflammation.

Materials and Methods: Thirty-six patients with COPD had thoracic computer tomography assessed as predominantly emphysematous and chronic bronchitis predominance and compared with blood biomarkers.

Results: The mean age of the study group was 72,1±8,0 years. There was a statistically significant difference between AP and transverse diameter between emphysema predominant and chronic bronchitis. There was a positive statistically significant correlation between thorax anteroposterior (AP) diameter and transverse diameter ratio and TNF-alpha, while no difference was found between COPD phenotype and blood biomarkers.

Conclusion: The absence of a significant difference in inflammatory biomarkers between patients with diffuse chronic bronchitis and those with diffuse pulmonary emphysema suggests that these two clinical and functional phenotypes may have a similar inflammatory pattern. In conclusion, there is great interest in the use of biomarkers for assessing phenotypic discrimination or response to COPD. We think that our results will be beneficial in planning larger clinical trials.

Keywords: COPD, Phenotypes, Biomarkers

*Çalışma için herhangi bir maddi destek kullanılmamıştır. Çıkar çatışması yoktur.

Makale Geliş Tarihi : 08.10.2018
Makale Kabul Tarihi: 30.03.2020

Corresponding Author: Pınar Mutlu, Çanakkale 18 Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Göğüs Hastalıkları AD Merkez/ Çanakkale
E-mail: pinarmutlu78@yahoo.com
Pınar Mutlu: 0000-0002-7496-0026
Nilüfer Aylanç: 0000-0002-5889-9763
N.Arzu Mirici: 0000-0002-7189-9258
Merve İlçin Güven: 0000-0002-0660-8039

GİRİŞ

Kronik havayolu obstrüksiyonu, tedaviden sonra bile geri dönüşü olmayan kalıcı hava akımı sınırlaması ile karakterize, dünyadaki en yaygın fonksiyonel anormalliklerden biridir (1). Bu sendrom genellikle aynı anda, her biri farklı derecede, kronik bronşit ve pulmoner amfizemin bir karışımından kaynaklanır (2). Bütün bu durumlar, birkaç hücre ve aracılarının dahil olduğu inflamatuvar bir arka plana sahiptir (3). Kronik bronşit ve amfizem, tipik olarak farklı özelliklere sahip olmakla birlikte, sıklıkla "kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH)" altında toplanır (2). Şüphesiz, farklı fenotiplere dayanan daha iyi bir yaklaşım, KOAH'ın karmaşıklığını arttırsa da, şu anda elde edilebilen bilgiler, sadece spirometrik kriterlere dayanan bir sınıflamanın yeterli olmadığı yönündedir.

Kırk yıldan uzun bir süre önce Burrows (4), amfizematöz ve kronik bronşit fenotiplerini tanımlamıştır. İlk tanımdan bu yana, çeşitli gözlemsel çalışmalar, kendine has özellikleri olan bu iki grup hastanın varlığını doğrulamıştır. Görüntüleme tekniklerinde amfizemin varlığı ve difüzyon testinde bir azalma; genellikle az miktarda balgam üretme, daha düşük vücut kitle indeksi (VKİ), korunmuş arteriyel kan gazları ve daha yüksek dispne ile seyreden amfizem fenotipinin aksine, kronik bronşit sıklıkla iyi korunmuş difüzyon kapasitelerine sahiptir ve bu hastalarda bakteriyel enfeksiyon riski daha yüksektir (5-8).

Bu çalışmanın amacı, kandaki inflamatuvar belirteçlerin, kronik havayolu obstrüksiyonunun (kronik bronşit ve pulmoner amfizem) farklı fenotiplerini ayırt edemediğini değerlendirmektir. Bu fark, bu fenotiplerin daha iyi tanımlanması için ve muhtemelen daha doğru bir terapötik yaklaşım için yararlı olabilir.

YÖNTEM

Kliniğimizde en az 2 yıl boyunca düzenli takip edilen, kronik havayolu obstrüksiyonu olan 19 hasta (hepsi erkek) üzerinde çalıştık. Çalışmamıza dahil edilme kriterleri; 40 yaş veya üzeri olmak, 10 paket/yıldan daha fazla sigara kullanmış olmak, GOLD kriterlerine göre bronkodilatör (400µg salbutamol inhalasyonu) sonrası FEV1/FVC değerinin 0,70'den küçük olması, son 4 haftadır alevlenme geçirmemiş olması ve bilgilendirilmiş onam verilmesidir. Çalışmamızdan dışlanma kriterleri; astım tanısı olması, primer pulmoner vasküler hastalığı olması ve çalışmanın yapıldığı sırada, solunum fonksiyon testlerini yapmasını engelleyecek herhangi bir ciddi fiziksel ve/veya zihinsel hastalığı olmasıdır.

Çalışma dönemi boyunca tüm hastalar inhale glukokortikosteroid, uzun etkili inhale β2 agonist, uzun etkili inhale antikolinergik ve sürekli salımlı teofilin tedavisi kullanıyorlardı.

Çalışmamız için üniversitemizin yerel etik kurulundan onay alınmıştır ve Helsinki Bildirgesine uygundur. Çalışmamıza katılan tüm hastalara bu çalışmaların özellikleri ve hedefleri hakkında bilgi verildi ve katılımları için yazılı izinleri alındı.

Toraks Bilgisayarlı Tomografi (Toshiba, Asteion TSX-021B, 4 detektörlü, 120 Kv, 150 mAs, 5 mm kalınlık) görüntüleri rutin protokolle çekildi ve aynı radyoloji uzmanı tarafından değerlendirildi.

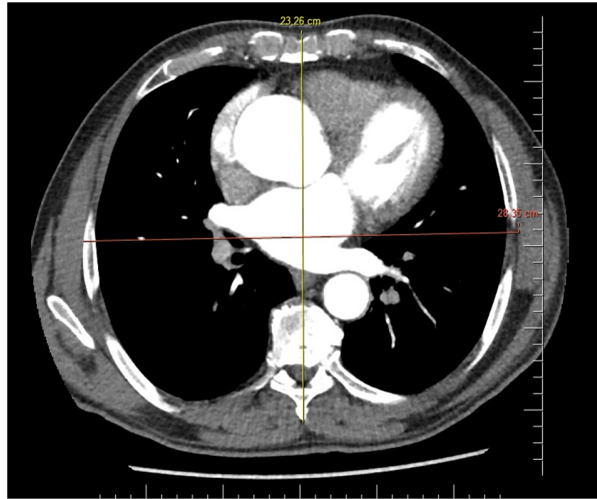
Toraksanteroposterior (AP) çap ölçümleri, aksial bilgisayar tomografi (BT) kesitlerinde, kalp düzeyinde

pulmoner venlerin görüldüğü ve asendanaortanın kalpten çıktığı seviyeden yapıldı. Toraksta AP çap ölçümü için önde sternumun en dış kenarı ve arkada aynı düzeydeki torakalvertebraspinozprosesinin en uç noktasını birleştiren lineer ölçüm çizgisi elde edildi.

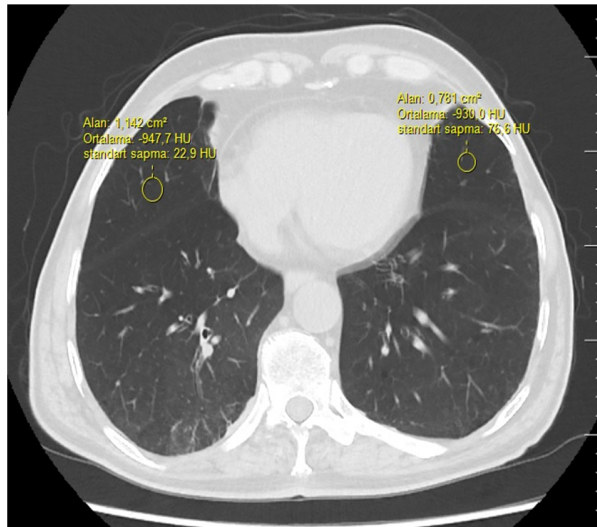
Transvers çap ölçümü için ise yine aynı seviyeden her iki taraftaki kostaların en dış kenarlarını birleştiren çizginin uzunluğu alınarak her iki ölçüm de milimetre cinsinden hesaplandı. Tek başına toraks AP ve transvers çap ölçümleri dışında bu değerlerin birbirine oranları da hesaplandı (Şekil 1).

Amfizem yoğunluğunu değerlendirmek için ise her iki taraf akciğer parankimi içerisinde havalanması en fazla artmış olan ve vasküler yapıların nerdeyse seçilemediği lokalizasyona ROI (Region of interest) denilen halkasal ölçüm çizgisi yerleştirilerek o alandaki ortalama doku dansite değerleri "Hounsfield Unite (HU)" cinsinden elde edildi (Şekil 2).

Yukarıda bahsi geçen tüm ölçümler, hem birbirleri ile hem de olguların demografik özellikleri ve biyobelirteçlerle karşılaştırıldı.



Şekil 1. Mediasten penceresinde toraks BT aksial kesitte aortanın kalpten çıkış düzeyinde ve pulmoner venlerin izlendiği seviyede toraks AP ve transvers çap ölçümü.



Şekil 2. Akciğer parankim penceresinde yapılan aksial BT incelemede her iki akciğerde özellikle amfizem düşünülen alanlarda ROI ile HU cinsinden dansite ölçümü

Kan Örnekleri:

Steril,düz 10 ml'lik tüplere alınan hasta kan örnekleri bekletilmeden laboratuara gönderildi. Oda ısısında tam olarak pıhtılaşan kanlar, 10 dakika boyunca 3200 rpm'desantrifüjlendive çalışılıncaya kadar -80 °C'de saklandı.

TNF-alfa, IL-6 ve IL-8 yüksek hassasiyetli bir enzime bağlı immünosorbent analiz (Biosource, Nivelles, Belçika) ile iki kez çalışıldı. (İnceleme içi değişkenlik katsayıları TNF- α için%3,7; IL-6 için %2,2 ve IL-8 için %2,3 idi.)

C-reaktif protein (CRP), 0,4 mg / l daha düşük algılama limiti ve %1,2'lik bir analiz içi katsayısı ile lateksi artırılmış immünopelometri (Siemens, Dublin, İrlanda) ile ölçüldü.

Pro-BNP için kan örnekleri, EDTA içeren tüplerde alındı. Plazma pro BNP, bir Elecsys 2010 sistemi (Roche Diagnostics, Mannheim, Almanya) üzerinde elektrokemilüminesans immünoassay ile ölçüldü. Transferrin ELİSA yöntemiyle ölçüldü.

İstatistiksel Analiz

Veriler SPSS 20.0 sürümü ile analiz edildi. Tanımlayıcı verilerin sunumunda sayı, yüzde, ortalama, standart sapma, ortanca, minimum, maksimum kullanıldı. Değişkenlerin korelasyonu analizinde Spearman Korelasyon Testi kullanıldı. Korelasyon kat sayısı 0,00-0,24: zayıf, 0,25-0,49: orta, 0,50-0,74: güçlü, 0,75-1,00: çok güçlü korelasyon olarak yorumlandı. İstatistiksel anlamlılık için p<0,05 kabul edildi.

BULGULAR

Çalışmaya 19 kişi dahil edildi. Tamamı erkekti. Çalışma grubunun yaş ortalaması 72,1±8,0, ortancası 72,0 (min: 52,0-maks:88,0) yılı.

Çalışmaya katılan hastaların 12'si pulmoner amfizem, 7'si kronik bronşit baskındı.

Amfizem ve Kronik Bronşit durumuna göre kan biyobelirteçleri ve dansite ölçümleri Tablo 1'de verilmiştir. Amfizem ve kronik bronşit arasında kan biyobelirteçleri ve dansite ölçümleri açısından istatistiksel anlamlılık saptanmamıştır. Amfizem baskın ile kronik bronşit arasında, AP ve transvers çap açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (Tablo 2).

AP çap/transvers çap oranı ile TNF-alfa arasında pozitif yönlü güçlü istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptandı (r: 0,565, p: 0,012) (Tablo 3).

TARTIŞMA

Bu çalışmanın amacı, kan inflamatuvar belirteçlerinin, kronik havayolu obstrüksiyonunun farklı fenotiplerini ayırt edip etmediğini değerlendirmektir. Şu anda, kronik bronşit ve pulmoner amfizemi birbirinden ayırt etmek için altın standart bir yöntem yoktur. Ancak farklı klinik ve fonksiyonel bulguların kombinasyonu, alt grupların doğru bir şekilde tanımlanmasını sağlayabilir. Bu durum son derece önemlidir çünkü son yıllarda toplanan kanıtlar, aynı FEV1 değerlerine sahip KOAH hastalarının klinik, fonksiyonel ve görüntüleme teknikleri açısından çok farklı olabileceğini doğrulamaktadır (9). ECLIPSE çalışması yakın zamanda, bu farklılıkların alev-

Tablo 1. Amfizem ve Kronik Bronşit durumuna göre kan biyobelirteçleri ve dansite ölçümleri

| Değişkenler | Amfizem Baskın (n=12) | | Kronik Bronşit Baskın (n=7) | | p |
|------------------|-----------------------|-------------------------|-----------------------------|------------------------|-------|
| | ortalama±ss | Ortanca (min-maks) | ortalama±ss | Ortanca (min-maks) | |
| Yaş | 71,2±9,3 | 71,5 (52,0-88,0) | 73,7±5,6 | 73,0 (65,0-82,0) | 0,471 |
| CRP | 1,8±2,5 | 0,5 (0,1-7,1) | 3,5±4,7 | 1,1 (0,4-13,3) | 0,237 |
| Transferrin | 244,0±55,8 | 246,0 (170,0-388,0) | 302,7±70,8 | 265,0 (224,0-405,0) | 0,083 |
| proBNP | 268,3±282,8 | 123,0 (56,6-835,0) | 434,3±339,6 | 361,0 (61,9-985,0) | 0,272 |
| TNF-alfa | 104,7±28,3 | 91,6 (84,1-187,6) | 95,0±17,4 | 92,6 (71,1-125,1) | 0,641 |
| IL-6 | 201,5±245,3 | 90,3 (50,8-762,8) | 248,4±187,6 | 201,8 (54,8-563,3) | 0,330 |
| IL-8 | 380,7±286,3 | 308,5 (115,0-1031,5) | 300,6±252,9 | 218,0 (132,0-853,2) | 0,554 |
| Ortalama dansite | -953,3±73,1 | -958,4 (-1070,2/-804,0) | -953,6±51,7 | -979,5 (-997,5/-853,0) | 0,866 |

ss: standart sapma, p: Mann Whitney U Testi

Tablo 2. Amfizem ve Kronik Bronşit durumlarına göre Toraks BT çap ölçümleri

| Değişkenler | Amfizem Baskın (n=12) | | Kronik Bronşit Baskın (n=7) | | p |
|--------------------|-----------------------|---------------------|-----------------------------|---------------------|-------|
| | ortalama±ss | Ortanca (min-maks) | ortalama±ss | Ortanca (min-maks) | |
| AP çap | 238,8±14,3 | 240,9 (210,8-260,3) | 208,3±16,9 | 214,7 (178,4-229,1) | 0,002 |
| Transvers çap | 322,9±29,2 | 325,5 (252,7-358,2) | 290,4±21,3 | 289,1 (263,1-329,5) | 0,014 |
| AP/Transvers oranı | 0,73±0,05 | 0,74 (0,64-0,83) | 0,71±0,05 | 0,69 (0,66-0,79) | 0,307 |

ss: standart sapma, p: Mann Whitney U Testi

Tablo 3. AP çap-Transvers çap oranı ile CRP, Transferrin, IL-6, IL-8, TNF-alfa ve pro BNP parametrelerinin korelasyonu

| APÇap/transvers çap | CRP | Transferrin | IL-6 | IL-8 | TNF-alfa | Pro BNP |
|---------------------|--------|-------------|--------|-------|----------|---------|
| r | -0,020 | -0,021 | -0,300 | 0,032 | 0,565 | -0,322 |
| p | 0,936 | 0,931 | 0,213 | 0,897 | 0,012 | 0,179 |

r: Korelasyon Katsayısı, p: Spearman Korelasyon Analizi

lenmelere ve FEV1'deki düşme hızına etki ettiğini göstermiştir (9).

Yaygın kronik bronşiti olan hastalar ile yaygın amfizemi olan hastalar arasında kan belirteçleri açısından anlamlı bir fark bulamadık. Bu durum, klinik ve fonksiyonel heterojenliğin, altta yatan inflamatuvar modelde benzer bir heterojenliği yansıtmayacağını düşündürmektedir. Bu konuyu ele alan çok az çalışma vardır ve bu çalışmalarda sadece balgam lenfosit oranı göz ardı edilebilir farklılıklar göstermektedir (10,11).

Fark saptayamamızın bir başka sebebi de, tüm hastalarımızın çalışmamız boyunca inhale glukokortikosteroid kullanması olabileceğini düşünüyoruz. İnhal veya oral glukokortikosteroid kullanımının BAL ve balgamdaki inflamatuvar süreci azalttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (12,13).

Pulmoner amfizemi kronik bronşitten önceki çalışmalara göre, total akciğer kapasitesi ile (TLC) hatta difüzyon kapasitesi ile (DLCO) en yüksek korelasyon gösteren BT amfizem skoruyla objektif olarak ayırdık (14). Kronik bronşit ve amfizem arasındaki klinik ve fonksiyonel farklılıklar olsa da, çoğu durumda iki fenotip birbiriyle örtüşür ve tek bir ölçüm, bir fenotipi diğerinden ayırt etmek için 'altın standart' olarak düşünülemez (15).

Amfizemde; akciğer dokusu elastik recoili kaybettiği için ortaya çıkan hiperinflasyon sonucu toraks AP ve transvers çaplarda artış oluşur. Bizim çalışmamızda da toraks BT'den ölçtüğümüz AP ve transvers çaplarda, amfizem yaygın ve kronik bronşit yaygın grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulduk. Ayrıca AP çap/transvers çap oranı ile TNF- α arasında pozitif yönlü güçlü istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon saptadık. Bu bulgumuz da gene doku destrüksiyonuyla sonuçlanan nötrofilik hava yolu inflamasyonunun, TNF- α gibi bazı sistemik inflamasyon yolları ile ilişkili olduğunu desteklemektedir (16).

Hasta sayımızın az olması ve çalışmamıza sadece erkek hastaların dahil edilmesi çalışmamızın kısıtlılığını oluşturmaktadır. Yaygın kronik bronşitli hastalar ile yaygın pulmoner amfizemi olan hastalar arasında inflamatuvar biyobelirteçler açısından anlamlı fark bulunmaması, vaka sayımızın yetersizliğinden kaynaklanmaktadır. Her iki gruptaki vaka sayısının yeterli olması halinde gruplar arasındaki farklar anlamlı olabilirdi. Örneğin, iki grubun Ferritin düzeyleri karşılaştırıldığında, p değeri 0,083 bulunmuştur. Gruplardaki vaka sayısının biraz daha fazla olması halinde bu değer 0,05'in altına inebilirdi.

Sonuç olarak, KOAH'ın fenotipik ayrımı ya da tedaviye yanıtın değerlendirilmesi için biyobelirteçlerin kullanımına büyük bir ilgi vardır. Sonuçlarımızın, daha büyük klinik çalışmaların planlanmasında fayda sağlayacağını düşünüyoruz.

KAYNAKLAR

- Halbert RJ, Natoli JL, Gano A, Badamgarav E, Buist AS, Mannino DM. Global burden of COPD: systematic review and meta-analysis. *Eur Respir J* 2006;28:523-532.
- American Thoracic Society. Standards for the diagnosis and care of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152:77-121.
- Chung KF, Adcock IM. Multifaceted mechanisms in COPD: inflammation, immunity, and tissue repair and destruction. *Eur Respir J* 2008;31:1334-1356.
- Burrows B, Fletcher CM, Heard BE, Jones NL, Wooltiff JS. The emphysematous and bronchial types of chronic airway obstruction. A clinicopathological study of patients in London and Chicago. *Lancet* 1966;1:830-835.
- Snoeck-Stroband JB, Lapperre TS, Gosman MM, et al. Corticosteroids in Obstructive Lung Disease (GLUCOLD) Study Group. Chronic bronchitis subphenotype with inflammation in COPD: inflammation in sputum and biopsies. *Eur Respir J* 2008;31:70-77.
- Rogers DF. The role of airway secretions in COPD: pathophysiology, epidemiology and pharmacotherapeutic options. *COPD* 2005;2:341-353.
- Miravittles M. Cough and sputum production as risk factors for poor outcomes in patients with COPD. *Respir Med* 2011;105:1118-1128.
- Kim V, Han MK, Vance GB, Make BJ, Newell JD, Hokanson JE. The chronic bronchitic phenotype of COPD: an analysis of the COPD Genestudy. *Chest* 2011;140:626-633.
- Agusti A, Calverley PM, Celli B, et al. Evaluation of COPD long it udinally to identify predictive surrogate end points (ECLIPSE) investigators. Characterisation of COPD heterogeneity in the ECLIPSE cohort. *Respir Res* 2010;10:122.
- Boschetto P, Miniati M, Miotto D, et al. Predominant emphysematous phenotype in chronic obstructive pulmonary disease patients. *Eur Respir J* 2003;21:450-454.
- Boschetto P, Quintavalle S, Zeni E, et al. Association between markers of emphysema and more severe chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax* 2006; 61: 1037-1042.
- Balbi B, Majori M, Bertacco S. Inhaled corticosteroids in stable COPD patients. Do they have effects on cells and molecular mediators of airway inflammation? *Chest* 2000;117:1633-1637.
- Lewellyn-Jones CG, Harris TA, Stockley RA. Effects of fluticasone propionate on sputum of patients with chronic bronchitis and emphysema. *Am J Crit Care Med* 1996;153:616-621.
- Miniati M, Filippi E, Falaschi F, et al. Radiologi

- evaluation of emphysema in patients with chronic obstructive pulmonary disease. Chest radiography versus high-resolution computed tomography. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 1359-1367.
15. Milne ENC, Pistolesi M. Detecting and quantifying chronic bronchitis and emphysema; in Milne ENC, Pistolesi M (eds). *Reading the Chest Radiograph. A Physiologic Approach*. St Louis, Mosby, 1993, pp 267-310.
 16. Reid MB, Li YP. Tumor necrosis factor-alpha and muscle wasting: a cellular perspective. *Respir Res* 2001; 2: 269-272.

