
Stabil kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan hastalar ile sigara içenlerde hava yolu inflamasyonu ve lenfosit alt tiplerinin analizi

Ahmet Selim YURDAKUL¹, Nevin TACI HOCA², Filiz ÇİMEN², Şükran ATIKCAN², Tuğrul ŞİPİT², Melike ATASEVER², Mustafa BALCI³

¹ Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı,

² Atatürk Göğüs Hastalıkları ve Göğüs Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi,

³ Türkiye Yüksek İhtisas Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Ankara.

ÖZET

Stabil kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan hastalar ile sigara içenlerde hava yolu inflamasyonu ve lenfosit alt tiplerinin analizi

Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) gelişiminde, sigara içimi, genetik ve çevresel etkenlerin yanında, hava yollarında oluşan kronik inflamasyonun da rolü olduğu belirtilmektedir. Bu çalışmada, KOAH'ı olan olgular ile sigara içen sağlıklı kişiler arasında hava yollarında oluşan inflamasyonun farklı olup olmadığını araştırmak amaçlandı. Çalışmaya KOAH tanısı konulan 18 hasta ile sigara içen, ancak KOAH gelişmemiş 17 kişi olmak üzere toplam 35 olgu alındı. Olguların tümüne fiberoptik bronkoskopi (FOB) uygulanarak bronkoalveoler lavaj (BAL) alındı. BAL sıvılarında hücre sayımı ve dağılımı ile lenfosit alt tiplerinin analizi yapıldı. Stabil KOAH'lı olguların BAL sıvısındaki nötrofil sayısının sağlıklı sigara içen gruba göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu ($p < 0.001$), makrofaj sayısının ise anlamlı düzeyde düşük olduğu saptandı ($p < 0.001$). BAL sıvılarında lenfosit alt tiplerinin analizi açısından sigara içen grup ile KOAH grubu karşılaştırıldığında, CD4+ T ve CD8+ T-lenfosit oranları sigara içen grupta daha yüksek bulunmakla birlikte, istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$). Sonuç olarak; stabil KOAH'lı olguların BAL sıvısındaki en önemli hücresel değişiklik, kronik hava akımı kısıtlanmasında çok önemli bir rolü olan nötrofillerin artış göstermesi ve makrofajların azalmasıdır.

Anahtar Kelimeler: KOAH, bronkoalveoler lavaj, inflamasyon.

Yazışma Adresi (Address for Correspondence):

Dr. Ahmet Selim YURDAKUL, Balkiraz Mahallesi Bucak Sokak Yükselbaba Apartmanı, No: 31/7 Abidinpaşa, ANKARA - TÜRKİYE

e-mail: ayurdakul@gazi.edu.tr

SUMMARY

Airway inflammation and lymphocyte subset analysis in patients with chronic obstructive pulmonary disease and healthy smokers

Ahmet Selim YURDAKUL¹, Nevin TACI HOCA², Filiz ÇİMEN², Şükran ATIKCAN², Tuğrul ŞİPİT², Melike ATASEVER², Mustafa BALCI³

¹ Department of Chest Disease, Faculty of Medicine, Gazi University, Ankara, Turkey,

² Atatürk Chest Disease and Chest Surgery Center, Ankara, Turkey,

³ Yüksek İhtisas Heart Education and Research Hospital, Ankara, Turkey.

Chronic airway inflammation is reported to have an important role for the development of chronic obstructive pulmonary disease (COPD), in addition to smoking, genetic and environmental factors. The present study was aimed to investigate whether the airway inflammation differed in subjects with stable COPD and healthy smokers. A total of 35 subjects (18 patients with COPD and 17 healthy smokers) were enrolled in this study. Bronchoalveolar lavage (BAL) was performed via fiberoptic bronchoscope in all subjects and cell counts and profiles and lymphocyte subset were analyzed in BAL fluids. The number of neutrophils in BAL of subjects with stable COPD was significantly higher than that of the healthy smokers ($p < 0.001$), and the number of macrophages was significantly lower than that of the healthy smokers ($p < 0.001$). Although CD4+ T:CD8+ T lymphocyte ratio was higher in healthy smokers, the difference was not significant ($p > 0.05$). As a result, the most marked cellular change in BAL of subjects with stable COPD is the increase in neutrophils and decrease in macrophages, suggesting a very important role in the chronic airflow limitation.

Key Words: COPD, bronchoalveolar lavage, inflammation.

Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerin en önemli sağlık sorunlarından biridir ve büyük oranda önlenilebilir bir hastalıktır. Çünkü etyolojisinden birinci derecede sigara sorumludur. Son yıllarda KOAH mortalitesinde büyük bir artış meydana gelmiş ve tüm dünyada ölüm nedenleri arasında altıncı sırayı almıştır (1).

KOAH, uzun süren kronik bir hastalık olması, çalışma gücünü sınırlaması, sık akut alevlenmelerle seyretmesi, akut alevlenmelerde oluşan solunum yetmezliği ve hastanın uzun süre yoğun bakımda kalması, erken ölümle iş gücü kaybı oluşturması gibi sonuçları nedeniyle sosyoekonomik yönden toplum için ciddi bir yük oluşturur. Birçok kronik hastalığın aksine prevalansı gittikçe artan bu hastalığın her yönü ile daha iyi anlaşılması ve özümsemesi gerekir. Sigara içimi KOAH gelişiminde majör risk faktörü olmakla birlikte, ağır sigara içenlerin sadece %15-20'sinde kronik hava yolu kısıtlılığı gelişmektedir (2-4).

Bu çalışmanın amacı, KOAH'lı hastalar ile sigara içen, fakat KOAH gelişmemiş kişiler arasında hava yollarında oluşan inflamasyonun farklı olup olmadığını araştırmaktır.

MATERYAL ve METOD

Çalışmaya Toraks Derneği ve Obstrüktif Akciğer Hastalığı İçin Global Girişim (GOLD) kılavuzuna göre KOAH tanısı konulan hastalar ile sigara içen, ancak KOAH gelişmemiş olgular alındı (5,6). Çalışmaya, en az dört haftadan uzun süre Toraks Derneği KOAH Tanı ve Tedavi Rehberi'nde belirtilen akut atak kriterlerine ait bulguların olmadığı stabil KOAH olguları dahil edildi (5). Onsekiz yaşından küçük olan, hamile olan, akut atağı bulunan, astımı, ilave akciğer ve/veya başka bir hastalığı olan, immünsüpresif ilaç veya düzenli olarak oral ve parenteral steroid kullanımı olan, kanama diyatezi, trombositopenisi bulunan, elektrokardiyografi (EKG)'de ritm bozukluğu olan ve çalışmaya katılmayı kabul etmeyen olgular çalışma dışı bırakıldı. Fiberoptik bronkoskopi (FOB) ve bronkoalveoler lavaj

(BAL) için güvenilir oksijen satürasyonu eşiği (istirahatte oda havası solurken) %90 olarak kabul edildi. Tüm KOAH'lı hastalara işlemden yarım saat önce bronkodilatör tedavi uygulaması yapıldı. Ayrıca, tüm olguların damar yolu açık tutuldu. FOB öncesinde hastalara kontrendikasyon yoksa premedikasyon için atropin [0.5 mg intramusküler (IM)] ve diazepam (5 mg IM) verildi ve 8.2 mg/kg ortalama 30 mL %2'lik prilokainle, nebulizatör aracılığıyla topikal anestezi uygulandı. Tüm olgulara işlem sırasında ve işlemden sonra en az iki saat nazal olarak oksijen verildi ve işlem sırasında pulse oksimetre ile oksijen satürasyonu takibi yapıldı. BAL için sağ akciğer orta lob ya da sol akciğer lingula kullanıldı. İltılmış steril izotonik NaCl solüsyonu 50 mL'lik bölümler halinde dört kereden instile edildi ve aspirasyon için düşük emme basınçları (50-100 mmHg) kullanıldı (7-9). Plastik tüplere konulan BAL sıvısı üç katlı gazlı bezden süzülerek, 10 dakika 1600 devirde santrifüj edildi. Dipte kalan hücre sedimentinin üzerine 2000 µL Hank solüsyonu koyduktan sonra bu süspansiyondan 10 µL alıp, daha önce küçük tüplere konulmuş 200 µL lökosit miyarı ile karıştırıldı ve Neubauer laminının bir gözüne bu karışımdan damlatıldı. Hank solüsyonlu süspansiyondan 50 µL, alıp önceden küçük tüpe konmuş olan 10 µL tripan mavisini ile karıştırdıktan sonra Neubauer laminının diğer gözüne de bir damla bu karışımdan damlatıldı. Neubauer laminının lökosit miyarlı tarafında total hücre sayısını, tripan mavisini tarafında ise hücrelerin viabilitesi değerlendirildi. Geriye kalan Hank solüsyonlu hücre süspansiyonu beş dakika 1600 devirde santrifüj edildikten sonra dipte kalan hücre sedimenti pipetle karıştırıldı ve lamin üzerine yayılarak kurutuldu. Kurumuş olan lamlardan biri üç dakika May-Grünwald ile tespit edildi ve üç dakika sonunda çeşme suyu ile yıkanarak Giemsa ile 10 dakika boyandı. On dakika sonunda lam çeşme suyu ile yıkanıp kurutulduktan sonra hücre ayırımı işlemi yapıldı

(10,11). Hastaların BAL sıvılarında lenfosit analizleri flow sitometri yöntemi kullanılarak yapıldı. BAL sıvısı K₃-EDTA'lı tüplere alındı. Her hasta için dört tüp [izotipik kontrol, lökogate (CD45/CD14), CD4/CD8, CD3] hazırlandı. Çalışmada hazır ticari monoklonal antikorlar (Dako, Danimarka) kullanıldı. Analizler FACScan (Becton Dickinson, Almanya) akım sitometri cihazında gerçekleştirildi. BAL lenfositleri FITC (fluorescein isothiocyanate) ve PE (phycoerythrin) gibi floresan maddelerle konjuge, fare kaynaklı antihuman monoklonal antikorlar ile işaretleildi. Çalışma aşamaları kısaca; 100 µL BAL sıvısı örneklerine 20 µL monoklonal antikor eklendi ve karıştırıldı. 4°C'de 20 dakika inkübasyondan sonra eritrositler lizis ile parçalandı ve yıkanarak uzaklaştırıldı. Lökositler %2'lik formaldehid solüsyonu ile fikse edildi. Cellquest (Becton Dickinson) yazılımı kullanılarak örneklerin akım sitometrik analizleri yapıldı. Örneklerdeki lenfosit kapılanmalarında ortalama floresan şiddetleri ölçülerek parametreler yüzde olarak hesaplandı.

Çalışmaya katılan tüm gruplardaki kişiler çalışma hakkında detaylı olarak bilgilendirildikten sonra yazılı onayları alınmıştır ve çalışmamız yerel etik komite tarafından onaylanmıştır.

Olguların istatistiksel analizleri SPSS Windows paket programı kullanılarak yapıldı. Bütün veriler ortalama ± standart sapma olarak saptandı. Gruplar arasındaki değişkenliği değerlendirmek için Mann-Whitney U testi kullanıldı. BAL sıvısındaki hücreler ile FEV₁ arasındaki ilişki Spearman korelasyon testi kullanılarak değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılık için p < 0.05 düzeyi alındı.

BULGULAR

Çalışmaya KOAH tanısı konulan 18 hasta ile sigara içen, ancak KOAH gelişmemiş 17 kişi olmak üzere toplam 35 olgu alındı (Tablo 1).

Tablo 1. Çalışmaya alınan olguların demografik özellikleri.

	Olgu sayısı (n)	Yaş (yıl)	Cinsiyet (erkek/kadın)	Sigara (paket/yıl)	FEV ₁ (%)
KOAH grubu	18	58.4 ± 9.1	16/2	50.8 ± 19.4	58 ± 22.9
Sigara içen grup	17	47.2 ± 13.9	13/4	29.6 ± 20.9	91.8 ± 15.7

KOAH grubunun BAL sıvısındaki nötrofil sayısının sağlıklı sigara içen gruba göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu ($p < 0.001$), makrofaj sayısının ise anlamlı düzeyde düşük olduğu saptandı ($p < 0.001$) (Tablo 2). Ayrıca, BAL sıvısındaki nötrofil sayısı ile FEV₁ arasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde negatif bir korelasyon saptandı ($r: -0.46, p < 0.015$).

Olguların BAL sıvılarında lenfosit alt tiplerinin analizinde, sigara içen grupta CD4+ T ve CD8+ T oranları, KOAH'lı grup ile karşılaştırıldığında daha yüksek olarak bulunmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p > 0.05$) (Tablo 3).

TARTIŞMA

KOAH gelişiminde sigara içimi, genetik ve çevresel etkenlerin yanında, hava yollarında oluşan kronik inflamasyonun da rolü olduğu belirtilmektedir (12-14). Sigara içimi KOAH gelişiminde majör risk faktörlerinden biridir. Ancak aşırı derecede sigara içenlerin yaklaşık %20 kadarında KOAH gelişmektedir (15). Bu nedenle hava akımındaki kısıtlanmanın hava yollarında ne tip bir inflamasyona neden olduğunu araştırmak için, çalışmamızda, sigara içen sağlıklı olgularla KOAH'lı olan olguların BAL sıvısındaki inflamatuvar hücreleri karşılaştırıldı.

KOAH'lı hastalarda nötrofillerin arttığı ve makrofajların azalmış olduğu, sigara içen sağlıklı kişilerde ise sadece nötrofil sayısında artış olduğu tespit edildi. Sigara içen sağlıklı kişiler ile KOAH'lı olan hastalarda yapılan diğer çalışmalarda da

BAL sıvısında nötrofillerin artış gösterdiği görülmüştür (16-18). Stabil KOAH'lı olguların BAL sıvısındaki nötrofillerin yüksek oranda bulunması; KOAH'da nötrofilik bir inflamasyonun olduğunu, stabil dönemde de inflamasyonun devam ettiğini ve bu inflamasyonun bronşiyollerde ve alveollerdeki harabiyetin nedeni olabileceğini düşündürmektedir. Artan nötrofil sayısı elastolitik aktivite artışının, dolayısıyla elastik geri çekilimin azalmasının nedeni olabilir. Ayrıca, nikotinin pulmoner mikrovasküler dolaşımında nötrofil retansiyonuna neden olduğu belirtilmektedir (19). Nötrofiller proteazların salınımı, reaktif oksijen radikallerinin oluşumu ve adezyon moleküllerinin salınımında yer aldığı için hem doku hasarı hem de sistemik etkiler üzerinde önemli bir rol oynar (20). Bu nedenle nötrofillerin artışı hastalığın oluşumunda ve progresyonunda önemli bir rol oynamaktadır.

Yapılan çalışmalarda, KOAH'lı hastaların BAL sıvısında nötrofil aktivitesini gösteren miyeloperoksidaz (MPO) düzeyi sağlıklı kontrol gruplarına göre daha yüksek bulunmuştur (17,21). Artmış aktif granülositlerin varlığı ve inflamatuvar mediatörlerden MPO'nun lokal depolanmasında artış olması doku hasarının nedeni olabilir.

Çalışmamızda, küçük hava yollarındaki ve alveoler kompartmanda yer alan hücreleri örneklemekte etkili bir yöntem olan BAL sıvısında inflamasyonu inceledik. Çünkü indükte veya spontan balgam büyük hava yollarındaki hücreleri göstermede daha yararlı bir yöntemdir ve balgamın sol ve gel fazı şeklinde heterojen yapıda ol-

Tablo 2. Olguların BAL sıvılarında total hücre sayısı ve hücrelerin dağılımı.

	Viabilite (%)	Total hücre sayısı ($\times 10^6$)	Makrofaj (%)	Nötrofil (%)	Lenfosit (%)
KOAH grubu	80.8 \pm 8.9	7.1 \pm 13.8	77.6 \pm 8.3*	14.7 \pm 5.9*	7.7 \pm 3.9
Sigara içen grup	82.9 \pm 9.7	5.1 \pm 10.2	89.2 \pm 5.3	4.6 \pm 2.7	6.2 \pm 3.2

* $p < 0.001$

Tablo 3. Olguların BAL sıvılarında lenfosit alt tiplerinin % oranları.

	CD3+ T (%)	CD4+ T (%)	CD8+ T (%)	CD4+ T/CD8+ T
KOAH grubu	50.8 \pm 30.7	10.9 \pm 9.9	25.5 \pm 19.9	0.8 \pm 1.6
Sigara içen grup	53.6 \pm 24.1	16.3 \pm 10.1	31.3 \pm 14.9	0.7 \pm 0.9

ması nedeniyle içindeki hücre ve mediatörler eşit dağılım göstermemektedir (14). Bronş biyopsisi örneği ise alveoler kompartmandaki inflamasyonu göstermede yetersiz ve daha invaziv bir yöntemdir. Ayrıca, hastaların bronş biyopsisi örneklerinde mononükleer hücrelerin dominant olduğu, nötrofillerin ise çok yüksek düzeyde olmadığı gösterilmiştir (17,21). Benzer şekilde Ludwig ve arkadaşları sigara içiminin alveoler septumda nötrofil akümülyasyonuna neden olduğunu ancak bronşlarda nötrofil artışına neden olmadığını göstermişlerdir (18). Bu bulgular kronik bronşit ve KOAH'lı hastalarda inflamasyonun santral hava yollarından ziyade periferik hava yollarında olduğunu düşündürmektedir. KOAH'da daha çok küçük hava yolu tutulumu olduğundan dolayı gelişen hava yolu inflamasyonunu göstermede BAL ile yapılan çalışmaların daha uygun olacağı düşüncesindeyiz.

Çalışmamızda KOAH'lı hastaların BAL sıvısında nötrofillerin sağlıklı sigara içenlere göre arttığı makrofaj sayısının ise azaldığı görülmektedir. Ancak lenfosit sayısı açısından iki grup arasında anlamlı bir farklılık görülmemektedir. Pesci ve arkadaşları, KOAH'lı olgular ile sağlıklı bireyleri karşılaştırdıkları çalışmalarında; KOAH'lı olguların bronş lavajlarında nötrofillerin sayısında artma, makrofaj ve lenfositlerin sayısında ise anlamlı azalma olduğunu saptamışlardır (22). KOAH'lı hastaların BAL sıvılarında makrofaj sayısının az olmasının nedeni; muhtemelen BAL sıvısındaki diğer inflamatuvar hücrelerin artışına bağlı görece bir düşüşün olmasıdır.

Çalışmamızda nötrofil sayısı ile FEV₁ arasında negatif yönde bir korelasyon saptadık. Stefano ve arkadaşları, KOAH'lı hastalarda hava akımındaki kısıtlılık derecesi arttıkça subepitelyal bölgedeki nötrofil sayısında da artış olduğunu tespit etmişler ve nötrofillerin hastalık progresyonu üzerinde rol aldığını belirtmişlerdir (23). Özol ve arkadaşları ise 25 hastada yapmış oldukları çalışmada, BAL sıvısında nötrofil sayısını daha yüksek bulmuşlar ve nötrofil sayısı ile hastalığın ciddiyetini yansıtan FEV₁ arasında anlamlı negatif bir korelasyon saptamışlardır (24). Bu durum nötrofillerin hastalık progresyonunda önemli bir rolünün olduğunu göstermektedir.

KOAH'lı hastaların bronşiyal biyopsi örnekleri ve BAL sıvısında özellikle CD8+ T hücrelerinin dominant olduğu belirtilmektedir (25-28). Saetta ve arkadaşları lokalize pulmoner lezyonları nedeniyle cerrahi müdahale uygulanan KOAH'lı hastalar ile sigara içen sağlıklı olgularda cerrahi doku örneklerini inceleyerek yapmış oldukları çalışmada; KOAH grubunda periferik hava yollarında CD8+ T-lenfositlerinin ve düz kas alanının artmış olduğunu göstermişlerdir (28). Costabel ve arkadaşları KOAH'lı hastaların BAL sıvısında yapmış oldukları bir çalışmada; sigara içenlerde sigara içmeyen kişilere göre CD4+ T sayısında azalma ve CD8+ T sayısında artış olduğunu ve hava akımı kısıtlaması olan kişilerde de benzer sonuçlar olduğunu belirtmişlerdir (26,27). Çalışmamızda KOAH gelişen hastalar ile sağlıklı sigara içenler arasında CD4+ T ve CD8+ T-lenfosit sayısı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Ayrıca, başka bir inflamatuvar hücre olan lenfositler normal sınırlarda bulunmakla birlikte CD4/CD8 oranı KOAH'lı hastalar ile sigara içenlerde azalmıştır. Bu durum muhtemelen sigara içimine bağlıdır (26,27). Çalışmamızda sağlıklı sigara içmeyen kontrol grubunun olmaması ve hasta sayısının azlığı çalışmamızın dezavantajlarıdır.

Sonuç olarak; stabil KOAH'lı olguların BAL sıvısındaki en önemli hücresel değişiklik, kronik hava akımı kısıtlamasında çok önemli bir rolü olan nötrofillerin artış göstermesi ve makrofajların azalmasıdır. KOAH'lı hastalarda periferik hava yollarındaki nötrofil sayısını azaltacak tedavi stratejileri üzerinde yapılacak ileri çalışmalar ile nötrofillerin KOAH patogenezi ve tedavisindeki yerinin daha da aydınlığa kavuşmasında yararlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Teşekkür

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Oya Kayaçan'a BAL hücre sayımı ve dağılımının incelenmesinin eğitimi ile katkılarından ve Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, İstatistik Bölümü'nden Dr. Jale Karakaya'ya çalışmanın istatistiksel analizlerinden dolayı teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. Murray CJ, Lopez AD. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global burden disease study. *Lancet* 1997; 349: 1498-504.
2. Diener CF, Burrows B. Further observations on the course and prognosis of chronic obstructive lung disease. *Am Rev Respir Dis* 1975; 111: 719-24.
3. Fletcher C, Peto R. The natural history of chronic airflow obstruction. *BMJ* 1977; 1: 1645-8.
4. Wright JL, Lawson LM, Pare PD, et al. The detection of small airways disease. *Am Rev Respir Dis* 1984; 129: 989-94.
5. Erdiñç E, Erk M, Tatlıcıoğlu T, Kocabaş A, Süerdem M, Umut S, Mirici A, Yılmaz V, KOAH Çalışma Grubu. Toraks Derneği Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı Tanı ve Tedavi Rehberi. 1. Baskı. Turgut Yayıncılık, 2000.
6. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease NHLBI/WHO workshop report, 2001.
7. British Thoracic Society guidelines on diagnostic flexible bronchoscopy. *Thorax* 2001;56;11-121.
8. Samurkaşoğlu B, Uđurman F. Bronkoalveoler lavaj. Erdođan Y, Samurkaşoğlu B (editörler). İnterstisyel Akciğer Hastalıklar. 1. Baskı. Ankara: Öncü Basımevi, 2002; 157-73.
9. Clinical guidelines and indications for bronchoalveolar lavage: Report of the European Society of Pneumonology Task Group on BAL. *Eur Respir J* 1990; 3: 937-74.
10. Kalaycıođlu O. Bronkoalveoler lavaj. *Tüberküloz ve Toraks* 1993; 41: 271-81.
11. Costabel U. Atlas der Bronchoalveolaren Lavage. New York: Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1994; 1-81.
12. Maestrelli P, Seatta M, Stefano AD, et al. Comparison of leukocyte counts in sputum, bronchial biopsies, and bronchoalveolar lavage. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 1926-31.
13. Cosio MG, Guerassimov A. Chronic obstructive pulmonary disease. Inflammation of small airways and lung parenchyma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 521-5.
14. Thompson AB, Daughton D, Robbins RA, et al. Intraluminal airway inflammation in chronic bronchitis. Characterization and correlation with clinical parameters. *Am Rev Respir Dis* 1989; 140: 1527-37.
15. Peto R, Speizer FE, Cochrane AL, et al. The relevance in adults of airflow obstruction, but not mucus hypersecretion, to mortality from chronic lung disease. *Am Rev Respir Dis* 1983; 128: 491-500.
16. Çetinkaya E, Kadakal F, Alkan F ve ark. Stabil KOAH olgularında balgam ve bronkoalveolar lavajda inflamatuvar hücrelerin karşılaştırılması ve bronş biyopsisinde patolojik değişikliklerin incelenmesi. *Solunum Hastalıkları* 2002; 13: 75-9.
17. Lacoste JY, Bousquet J, Chanez P, et al. Eosinophilic and neutrophilic inflammation in asthma, chronic bronchitis, and chronic obstructive pulmonary disease. *J Allergy Clin Immunol* 1993; 92: 537-48.
18. Ludwig PW, Schwartz BA, Hoidal JR, et al. Cigarette smoking causes accumulation of polymorphonuclear leukocytes in alveolar septum. *Am Rev Respir Dis* 1985; 131: 828-30.
19. Stockley RA. Neutrophils and the pathogenesis of COPD. *Chest* 2002; 121: 151-5.
20. Rahman I, Morrison D, Donaldson K, MacNee W. Systemic oxidative stress in asthma, COPD, and smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154: 1055-60.
21. Linden M, Rasmussen JB, Piitulainen E, et al. Airway inflammation in smokers with nonobstructive and obstructive chronic bronchitis. *Am Rev Respir Dis* 1993; 148: 1226-32.
22. Pesci A, Balbi B, Majori M, et al. Inflammatory cells and mediators in bronchial lavage of patients with chronic obstructive pulmonary disease. *Eur Respir J* 1998; 12: 380-6.
23. Stefano AD, Capelli A, Lusuardi M, et al. Severity of airflow limitation is associated with severity of airway inflammation in smokers. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 1277-85.
24. Özol D, Aysan T, Solak ZA, et al. Bronchoalveolar lavage findings in patients with mild to moderate COPD who do not currently smoke. *Turkish Respiratory Journal* 2004; 5: 97-101.
25. O'shaughnessy TC, Ansari TW, Barnes NC, et al. Inflammation in bronchial biopsies of subjects with chronic bronchitis: Inverse relationship of CD8⁺ T lymphocytes with FEV1. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 852-7.
26. Costabel U, Maier K, Teschler H, et al. Local immune components in chronic obstructive pulmonary disease. *Respiration* 1992; 59: 17-9.
27. Costabel U, Bross KJ, Reuter C, et al. Alterations in immunoregulatory T-cell subsets in cigarette smokers. A phenotypic analysis of bronchoalveolar and blood lymphocytes. *Chest* 1986; 89: 39-44.
28. Saetta M, Di Stefano A, Turato G, et al. CD8⁺ T lymphocytes in peripheral airways of smokers with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 157: 822-6.