

40358

T.C
CUKUROVA UNIVERSITESI
SAGLIK BILIMLERI ENSTITUSU
IMMUNOLOJİ BİLİM DALI

BRONŞİAL ASTMALI HASTALARDA
FEIA-CAP VE ELISA YÖNTEMLERİ
TOTAL IgE, FEIA-CAP YÖNTEMİ İLE
ALLERJENE SPESİFİK IgE'NİN
ARASTIRILMASI

BİLİM UZMANLIĞI TEZİ

TEZ YÖNETİCİSİ
Yrd.Doc.Dr.Suleyman ÜZBEK

Biyolog
SENAY IDRİSOĞLU

ADANA - 1995

KABUL VE ONAY SAYFASI

C.Ü.SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

.İç Hast.İmmünolojiMASTER tezi olarak hazırladığı 'Bronşial Astmalı Hastalarda
.Serumda Total IgE ve Allerjene Spesifik IgE'nin ELISA ve FEIA-CAP Yöntemleri
ile Araştırılması.' başlıklı bu
çalışma, jürimizce Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri
uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Gereğini arz ederiz.

6. / . 11 / 1995.

Başkan : Yard.Doç.Dr.Süleyman Özbek

Üye : Prof.Dr.Eren Erken

Üye : Yard.Doç.Dr.Kamuran Konca

Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 22-11-1995
ve 26/10-7 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü
Prof.Dr.Güneş YÜREĞİR

Güneş i. Yüreğir

TESEKKUR

Çalışmalarım sırasında fikirlerinden yararlanarak beni yönlendiren, tezimin her aşamasında bana yardımcı olan bilim dalı başkanımız sayın Prof.Dr.Eren Erken'e çalışmalarımda destek olan Danışmanım sayın Yard.Doç.Dr.Süleyman Üzbek'e ayrıca tezimin yazılmasında yardımcı olan sekreterimiz Ayten Demir'e teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

SAYFA:

* TESEKKUR	I
* ŞEKİL VE TABLO LİSTESİ.....	II
* ÖZ.....	III
* ABSTRACT.....	III
1. GİRİŞ VE AMAC.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 ALLERJİYE GİRİŞ.....	3
2.1.1. Allerji.....	3
2.1.2. Allerjik Reaksiyonların Sınıflandırılması.....	4
2.1.3. Tip I. Erken Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu.....	5
2.2. MEDIATÖRLER.....	7
2.2.1. Histamin.....	8
2.2.2. Arakidonik Asit Metabolitleri.....	9
2.2.3. Kemotaktik Faktörler.....	11
2.2.4. İmmünooglobulin E Antikoru (IgE).....	11
2.2.5. Eozinofiller ve Bronşial Astmadaki Yeri.....	13
2.2.6. Mast Hücreleri.....	16
2.3. ATOPIK ALLERJENLER.....	21
2.3.1. Polenler.....	21
2.3.2. Kuf Mantarları.....	22
2.3.3. Ev Tozları.....	23
2.3.4. Besin Allerjisi.....	23
2.4. BRONŞIAL ASTMA.....	24
2.4.1. Astmanın Sınıflandırılması.....	25
2.4.2. Patogenez.....	28
2.4.3. Astma Krizinin Oluşumu.....	31
2.5. ELISA.....	33
2.5.1. ELISA Tekniklerinin Sınıflandırılması.....	34
2.5.2. Yarışmalı ELISA Yöntemleri.....	35
2.5.3. Yarışmalı Olmayan Yöntemler.....	35
2.6. FEIA-CAP SİSTEM.....	37
2.6.1. FEIA-CAP Sistem Mekanizması.....	38
2.6.2. Allerjene Spesifik IgE'nin RAST ile Ölçümü.....	39
3. GEREK VE YÖNTEM.....	41
4. BULGULAR.....	48
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	60
6. TÜRKÇE ÖZET.....	63
7. İNGİLİZCE ÖZET.....	64
8. KAYNAKLAR.....	65
9. ÖZGEÇMİŞ.....	70

SEKİL VE TABLO LİSTESİ

SAYFA:

SEKİL 1: Tip I Aşırı Duyarlılık Anafilaksi-Atopi Mekanizması.....	17
SEKİL 2: FEIA-CAP Sisteminin Mekanizması.....	40
SEKİL 3: FEIA Total IgE'nin Kontrol ve Hasta Gruplarına Göre Dağılımı.....	58
SEKİL 4: ELISA Total IgE'nin Kontrol ve Hasta Gruplarına Göre Dağılımı.....	59
TABLO I : Erken Aşırı Duyarlılık Reaksiyonu.....	6
TABLO II : Histamin Etkileri.....	9
TABLO III : Eozinofil Tarafından Salgılanan Mediatorler.....	14
TABLO IV : Mast Hücre Mediatorleri.....	20
TABLO V : Astmada Sekonder Etki Hücre ve Ürünleri.....	18
TABLO VI : Bronşial Astmalı Olguların Laboratuvar Bulguları.....	51
TABLO VII : Kontrol Grubunun Laboratuvar Bulguları.....	56
TABLO VIII: Olguların Dağılımı.....	48
TABLO IX: Olguların Total IgE Düzeyleri.....	49
TABLO X: Bronşial Astmalı Olgularda FEIA-CAP Sistemi ile Yapılan Allerjene Spesifik IgE Sonuçları.....	50
TABLO XI: Total IgE Düzeylerinin Her İki Metoddaki Sensitivite ve Spesifiteleri.....	50

02

Bronşial astmalı 123 hasta ve 53 kontrolde FEIA-CAP ve ELISA yöntemi ile total IgE düzeyleri kantitatif, ayrıca FEIA-CAP sistemi ile antijene spesifik IgE, phadiatop hem hasta, hem de kontrol grubunda kalitatif ölçüldü. Total IgE düzeyleri hasta grubunda kontrol grubuna oranla anlamlı artış gösterdi [$0.001 < p < 0.01$ (FEIA-CAP) ve $p < 0.001$ (ELISA)]. Hasta grubunda phadiatop %44.7, spesifik IgE ise %59.3 oranında artma saptandı. Her iki yöntem ile yapılan total IgE ölçümleri korelasyon gösterdi. Bulgularımız bronşial astım tanısında ve allerjenlerin saptanmasında total IgE ve allerjene spesifik IgE ölçümlerinin önemini bir kez daha ortaya koymuştur.

Anahtar Kelimeler : Bronşial astma, Total IgE, Antijene spesifik IgE, Phadiatop, FEIA-CAP sistem, ELISA.

ABSTRACT

Serum IgE levels in 123 patients with asthma bronchiale and 53 healthy controls were studied by ELISA and FEIA-CAP system. Mean total IgE level of the patient group was significantly higher than that of the controls [$P < 0.001$ (ELISA) and $0.001 < P < 0.01$ (FEIA-CAP)]. In the patient group FEIA-CAP system tests for phadiatop and allergen specific IgE also revealed positive results in 44.7% and 59.3% respectively.

Key words : Bronchial asthma, Total IgE, antigen specific IgE, Phadiatop, FEIA-CAP system, ELISA.

1. GİRİŞ VE AMAC

Astma toplumun %3-5'ini etkileyen yaygın bir hastalıktır. Spesifik allerjenlere karşı sensitivitelere prevalansı hem genetik yatkınlık hemde allerjenle karşılaşmaya yol açan coğrafi ve kültürel faktörler tarafından belirlenir.

Astma farklı kişilerde değişik derecelerde rol oynayan biyokimyasal, immünolojik, infeksiyöz, endokrin ve patolojik faktörlerin etkisi ile oluşan kompleks bir hastalık olup klinik olarak önce ataklar halinde nefes darlığı, öksürük, hırıltılı solunum, özellikle ekspirasyon gücünü ile karakterizedir. Astımdaki nefes darlığı, bronş ceperinde düz kasların kontraksiyonu, mukus salgısının artması ve mukozanın kalınlaşmasının sonucu solunum yollarının daralması nedeniyle ortaya çıkar. Yeterince tedavi olmamış hastalarda kronik obstruktif akciğer hastalığına yol açabilen bir hastalıktır.

Patogenezi açıkça anlaşılmamış olmamakla birlikte mast hücreleri, eozinofiller, nötrofiller ve plateletler hastalığın bronkokonstriksiyon fazında önemli rol oynamaktadır. Allerjik astmalı hastaların kan ve bronşial sekresyonlarında eozinifili, serumda IgE konsantrasyonunda artma bulunur.

Bronşial astmalı kişilerde daha çok ev tozu, ev tozu akarları, küf ve mantar ve polenler hastalığın oluşmasında etkendirler. Astma etyopatogenezinde daha çok Tip I anaflaktik reaksiyonlar rol oynar. Allerjenle temas sonunda salınan mediatörler nötrofil ve eozinofiller için kemotaktik etkiye sahiptirler. Bu inflamatuvar hücreler degranüle olup kemotaksis ve inflamasyona sebep olan maddeler salgırlarlar.

Bronşial astmada bronş epitelindeki immunopatolojik reaksiyonlar birbirlerini etkileyerek olayları başlatırlar. Alt solunumu yollarının pek çok uyarıya karşı artmış yanıtı ile karakterizedir. Son zamanlara kadar bronkokonstriksiyona yol açan aşırı cevaplılığın altta yatan problem olduğu düşünölmekteydi. Fakat şimdilerde havayolu inflamasyonu sorumlu tutulmaktadır. Bu gibi görüşler yeni araştırma ve terapötik stratejilerin temelini oluşturmaktadır. Cukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dahiliye

ImmUnoloji ve GÖğüs Hastalıkları kliniğinde erişkinlerde yapılan bu çalışmanın amacı bölgemizde allerjik astmalı hastalarda serum total IgE düzeyinin ELISA ve FEIA-CAP yöntemiyle, kantitatif ölçümünün karşılaştırılması ve serumda spesifik IgE'nin (RAST FEIA CAP) ve phadiatop FEIA-CAP sistemi ile kalitatif olarak araştırılması, böylece hem allerjen özelliklerini hem de yöntemler arasındaki farklılıkları ortaya koyulmasıdır.

* Bu çalışma, Çukurova Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından SBE-94-23 Projesi olarak desteklenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ALLERJİYE GİRİŞ

İmmünoloji allerjiden daha genç bir bilim dalıdır. Bu bilim dalının doğuşu daha çok 19. asrın sonunda bakteriyel enfeksiyon ve dirençli, yılan zehirine dirençli, difteriye karşı antiserum geliştirilmesi ve anaflaksinın tarifi ile başlar. Allerji ile immünoloji arasında bağ kurulması 20. asrın başında birçok araştırmacının gayreti ile gerçekleşmiştir. Uzun senelerden beri allerjik hastalıkları oluşturan immünoloji tam bilinmediği için allerjiye hekimler esrarengiz hastalıklar olarak bakmıştır. Son 20-30 yıldır allerji ve immünoloji dalındaki gelişmeler ile bu durum ortadan kalkmış ve tıpta en cabuk gelişen dallardan biri haline gelmiştir. İmmünolojide bilgiler arttıkça hipersensitivite reaksiyonları daha iyi anlaşılmakta ve klinik tedaviye daha rasyonel yaklaşılabilir.

Allerjik hastalıklar her yaş grubu için en sık görülen hastalıkların başında gelmektedir. Amerika'da geniş kapsamlı bir insidans araştırmasında allerji en sık görülen 10 önemli hastalıktan ikinci sırayı almaktadır (27,43).

2.1.1. Allerji

Allerji kelimesi ilk kez 1906 yılında Clemens ve Von Pirquet tarafından kullanılmıştır. Eski Yunancada orjinal durumda değişiklik anlamına gelen "allos" kelimesinden türemiştir. Von Pirquet bağışıklık ile artmış duyarlılık arasında yakın ilişkinin bulunduğu sonucuna varmış ve allerjiyi yabancı bir madde ile karşılaşmayı takiben hayvanlardaki tepki kapasitesinde kazanılmış özel değişiklikler olarak tanımlamıştır (1,36).

Allerji bir antijene karşı duyarlı hale gelmiş kişinin aynı antijenle tekrar karşılaştığı zaman humoral veya bağışıklık özelliklerine sahip lenfositlerle etkileşim sonucu beliren bir reaksiyondur (37). Günümüzde de hipersensitivite ve aşırı duyarlılık reaksiyonları es anlamda kullanılmaktadır (40).

Allerjen, bir immün cevabı uyaraabilen herhangi bir yabancı maddedir. Bu, bir antijen molekülü veya onun kaynağı olan tahıl poleni, hayvan derisi (cilt ölü hücreleri), insekt venomu veya gıda ürünü gibi maddeler olabilir. Hipersensitivite ve sensitivite sıklıkla allerjinin es anlamı olarak kullanılmaktadır. Bazı olgularda aynı allerjen birden fazla allerji tipinden sorumlu tutulabilir. Allerjen ile karşılaşma solunum, sindirim, injeksiyon veya deri teması yolları ile olabilir. Bir bireyin belirli bir çevresel allerjene karşı sensitizasyonu (duyarlılığı) allerjenin kimyasal ve fiziksel özellikleri, maruz kalmanın şekli ve süresi bireyin kendine özgü genetik yapısı gibi faktörlerin ortak etkisi ile olmaktadır. Bir allerjen ile karşılaştıktan sonra allerjik hastalığın olması sadece önceden oluşmuş sensitizasyonu değil, aynı zamanda reaksiyonun belirli bir organda lokalizasyonunu belirleyen diğer faktörleri de gerektirir. Bu özellikle sensitizasyonun nazal mukozada, bronşial mukozada, ciltte, gastrointestinal kanalda veya iki yada daha fazla bölgede kombine olarak lokalize hastalığa yol açabilen atopik allerjide belirgindir (41).

2.1.2. Immünolojik Reaksiyonlarının Sınıflandırılması

Immünolojik reaksiyonların sınıflandırılması Gell ve Coombs tarafından 1968 yılında, immün reaksiyonların dokuda oluşturdukları zedelenmeye ve bu zedelenmenin oluş mekanizmasına göre yapılmıştır. Bu sınıflandırmaya göre, immün doku zedelenmesi 4 tipe ayrılmıştır (4).

- 1- Erken aşırı duyarlılık reaksiyonu (Tip I Anafilaktik reaksiyon).
- 2- Sitotoksik veya sitolitik reaksiyon (Tip II)
- 3- İmmün-kompleks reaksiyonu (Tip III, Toksik İmmün kompleks reaksiyonu).
- 4- Gecikmiş veya hücresele tip aşırı duyarlılık reaksiyonu (Tip IV).

2.1.3. Tip: I. ERKEN AŞIRI DUYARLILIK REAKSIYONU

Anafilaktik aşırı duyarlılık atopi, allerji ve reaktif aşırı duyarlılık olarak da adlandırılır (30). Tip I aşırı duyarlılık reaksiyonu genellikle akut ve kısa sürelidir. Uzun süreli inflamasyona sebep olmaz.

Anafilaksi ve atopiye bağlı tepkimelerde antijenlere karşı oluşan antikorlar mast ve bazofil hücrelere Fc kısımları ile yapışırlar. Hücreye yapışık durumdaki bu antikorların Fab kısımları yeniden girecek antijenlerle birleşmek üzere serbesttir. İleride organizmaya yeniden giren aynı antijen ile birleşirler ve yapışık oldukları hücreleri uyararak bazı ara maddelerin salınmasına yol açarlar (5). Tip I aşırı duyarlılığın rol oynadığı klinik durumlar ekstrinsik bronşiyal astma, allerjik rinit (saman nezlesi) bazı urtiker tipleri, yiyecek allerjileri, belirli ilaç allerjileri, böcek sokmasına karşı reaksiyonlar ve sistemik anafilaksidir (25). Son yıllarda allerji, tip I aşırı duyarlılık ile eş anlamda kullanılmaktadır. IgE'nin aracılık ettiği bu olayda önceden duyarlanmış mast hücrelerinden veya bazofilden antijen stimülasyonu ile inflamasyonun farmakolojik mediyatörleri salınır Şekil-I'de erken aşırı duyarlılık reaksiyonunun ayrıntılı şeması görülmektedir (19). Atopi ve atopik sözcükleri 19.yüzyılın başında ilk kez Cocave Cooke tarafından kullanılmıştır.

Bugün atopi deyiimi ile çevremizde yaygın olarak bulunan ve organizmaya zararı olmayan allerjenler ile karşılaşma sonrası immün sistemin IgE antikorları ile karakterize bir yanıt oluşturulması anlaşılmaktadır (36).

Allerjik hastalıkların genetik geçisi tam bilinmemektedir. IgE yapımı immünojenetik kontrol altındadır ve çevre faktörleri ile yakından ilgilidir. Ailevi insidansı fazladır. Hastaların ebeveynlerinde atopi bulunması önemlidir. Anne atopik ise bebeğin kord IgE'si non atopik annenin bebeğinden yüksek olmaktadır. Ebeveynin ikisinde atopi varsa çocuklarda atopi gelişmesi daha belirgindir. Ebeveynin ikisi de atopik ise çocukların %50-70'i, ebeveynin birisi atopik ise çocukların %30-50'si atopik olabilir (26). Ebeveyni atopik olmayanlarda en fazla %30'a varan oranda atopiye rastlanır. Atopi gelişmesinde hereditenin önemli rolü vardır. Erken Aşırı Duyarlılık Reaksiyonunda rol alan hücre, antijen ve antikor Tablo I'de gösterilmiştir (19).

TABLO-I: ERKEN AŞIRI DUYARLILIK REAKSİYONU

- Hücre : 1. Mast Hücresi
a) Mukozal mast hücresi
b) Doku mast hücresi
2. Bazofil Lökosit
3. Eozinofil Lökosit

Antijen: Ev tozu, ev tozu akarları (Dermatophogoides pterriysinus ve D. Farinea), polenler, hayvan tüyleri, mantar sporları, besinler, ilaç v.s.

Antikor: IgE

2.2. MEDIATÖRLER

Inflamasyon mediatörleri, inflamatuvar hücrelerden meydana gelir. Çeşitli uyarılar arasında immünolojik uyarım, sitokinlerle olan uyarım, büyüme faktörleri ile olan uyarım, ilaç veya şimik maddelerle meydana gelen uyarım sayılabilir. Inflamatuvar hücreler, çeşitli mediatörler salgılayabilirler. Bu mediatörlerin biyolojik etkileri en iyi şekilde, bir allerjene hassas olan kimseye, bu allerjenlerin tekrar verilmesi sonucunda meydana gelen olaylardan anlaşılmıştır (27).

Duyarlı olduğu antijen, solunum yolu ile verildiğinde şahısta, erken ve geç reaksiyonlar meydana gelir. Erken safha da bronkokonstriksiyon mukozal ödem, eritem ve sekresyon olur. Erken reaksiyon bronkospastik mediatörler sonucu meydana gelir. Bu mediatörler arasında, Histamin, PGD_2 , PAF ve sulfidopeptit lökotrienler ve adenosin sayılabilir. Geç safhada lökosit infiltrasyonu belirgin olduğundan, bu safhada PAF ve diğer lökosit kemotaktik faktörlerinin önemli bir rol oynadıkları ortaya çıkmaktadır (27). Mediatör salınımı başlıca,

- a- Hücredeki mediatör miktarına
- b- Hücre yüzeyindeki IgE molekülleri sayısına
- c- Hücre içi kalsiyum düzeyine
- d- Hücre içi cAMP/cGMP oranına bağlıdır. Bu oran büyüdükçe hücre uyarılara direnc kazanır.

Tip I Reaksiyonda Rol Oynayan Baslıca Mediatörler:

1- Histamin

Mast hücreleri ve bazofillerin granüllerinde bulunur. Histamin histidinin dekarboksilasyonu sonucu Histidinden meydana gelir. Histamin bu granüllerdeki proteoglikanlara ve özellikle heparine bağlanmış olarak bulunur. Histamin mast hücreleri ve bazofillerde bulunduğu için barsak, akciğer ve deride yüksek miktarda bulunur. Histamin hücre içinde bulunan depolardan IgE veya nonimmünolojik uyarımlarla uyarıldığı zaman salgılanır. Sistemik mastositoste kanda yüksek oranda bulunur. Aynı şekilde kandaki düzeyi, astma, anafilaksi ve Urtiker durumlarda artar (29). Histamin salındıktan kısa bir zaman sonra bronkokonstriksiyon, kapiller geçirgenliğin artması meydana gelir. Histamin değişik biyolojik fonksiyonlarını hücre yüzey reseptörlerini aktive ederek yapar. Histamin H_1 ve H_2 olarak bilinen 2 reseptörü vardır (Tablo II: Histamin etkileri). Histamin intra dermal enjekte edildiği zaman triple cevabı oluşur. Ödem plağı ve eritem oluşmasında H_2 reseptör minimal, H_1 reseptör önemli rol oynar. Burun sekresyonun artmasına H_1 reseptör uyarılması sebep olur H_1 reseptör aynı zamanda nötrofil ve eozinofil kemotaktik etki gösterir. H_2 reseptör vasküler permabilitenin artmasına neden olur, nötrofil ve eozinofil için negatif kemotaktik ve pozitif kemokinetik etki gösterir (19). H_1 ve H_2 reseptörlerinin birlikte stimülasyonu ise vazodilatasyon, kardiak irritabilite ve kasıntıya neden olur (27).

Tablo- II: Histaminin Etkileri

H₁ reseptör:

Akciğer barsak ve uterusu düz kas kontraksiyonu,
Postkapiller venül endotelinde permeabilite artışı,
Nasal mukus sekresyonunun artması,
Prostaglandin Üretiminin artışı.

Kaşınma

Atrioventriküler nodun ileti zamanında uzama ve taşikardi.
Nötrofil ve eozinofil için pozitif kemokinetik ve kemotaktik
etki.

Intrasellüler siklik GMP düzeyinde artma.

H₂ reseptör:

Vasodilatasyon

Akciğerde mukus yapımının artması

T hücreleri cevabı inhibisyonu

Gastrik asit sekresyonunda artma

Siklik AMP'nin artması

Bronkodilatasyon

Nötrofil ve eozinofil için negatif kemotaktik ve pozitif
kemokinetik etki.

Bazofil mediatör cevabının inhibisyonu

Özefagus kontraksiyonu

2.2.2. Arakidonik Asit Metabolitleri

Bu mediatörler mast hücreleri, bazal lökositler, endotel hücreleri, değişik organellerin epitel hücrelerinden salınır (19). Membran fosfolipitlerinden meydana gelen Arakidonik asitten siklooksijenasyon ve lipooksijenasyon enzimatik yolları ile meydana gelen prostoglandin ve lökotrienler inflamasyonun en büyük iki mediatörüdür. Arakidonik asit 20 karbon uzunluğunda 4 çift bağlı bir yağ asididir. Mast hücrelerine stimülüs geldiği zaman fosfolipaz

A₂ aktive olur. Fosfolipaz A₂ etkisi ile fosfatidil kolinden arakidonik asit oluşur. Arakidonik asit 2 değişik yolla metabolize olarak, mediatör salınımına yol açar. Bunlardan biri lipooksijenaz, diğeri siklooksijenaz yoludur. Astmada pek çok eikosanoid rol oynar. Bunların hepsi iki yolun ürünleridir (9,19,27).

A- Siklooksijenaz Ürünleri; mast hücresinde bu yolla arakidonik asitten prostaglandin D₂ oluşur. PGD₂ yapımı nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlarla inhibe edilir. PD₂ ciltte eritem ve kabarcıklar yapar. Lökositlerin kemotaksisine neden olur. Ciltte nötrofil hücrelerin infiltrasyonunu sağlar. Sistemik mastositosisli hastalarda görülen flushing ve hipotansif episodlar bu metabolite bağlanmıştır.

B- Lipooksijenaz Ürünleri; Arakidonik asit bu yolla metabolize edildiği zaman birçok bileşikler ortaya çıkar. Bunlar içinde 4 tanesi biyolojik olarak aktiftir. Lökotrien denilen bu maddeler şunlardır. LTB₄, LTC₄, LTD₄, LTE₄, bunlar özellikle mukozal mast hücrelerinden meydana gelir. LTB₄ kemotaktik özelliği olan bir bileşiktir. LTC₄ ise "slow reacting substance of anaphylaxis" denilmektedir. LTD₄ ve LTE₄, düz kasları kontrakte edebilir. Bronkokonstriksiyon yapar ve hava yollarında mukus sekresyonuna neden olur. Ciltte kızarıklık ve eritem yapar (27). Lökotrienler histamine göre çok daha kuvvetlidir. Bu yüzden allerjik hastalıkların oluşmasında önemli rol oynarlar. Astmalı ve bronşitli kişilerin bronşial epitel hücrelerinde 15-lipooksijenaz ^{anti}jeninin düzeylerinin arttığı görülmüştür ki bu 15-lipooksijenazın solunum yolu inflamasyon hastalığı ile indüklendiği fikrini vermektedir. Astmada, epitel hücrelerinin hem kendiliğinden hem de uyarı sonrasında büyük miktarlarda 15-HETE saldığı gösterilmiştir. 15-HETE (Hidroksieikosatetraenoikasit); inflamatuvar hücreler yoluyla infiltrasyonu uyaran (kemotaktik etki), mukoz glikoprotein salınımını uyaran lökositlerde 5-lipooksijenaz aktivitesini etkileyen ve atopik astma hastalarında solunum yoluyla alınan allerjenlere karşı gelişen erken bronkokonstriksiyon yanıtını artıran bir biyolojik ajandır (9,19,27).

2.2.3. Kemotaktik Faktörler;

Mast hücreleri ve bazofiller diğer lökositleri harekete geçiren kemotaktik mediatörler salgırlar. Kemotaktik faktörler hücrelerin fazla bulunduğu yerden az bulunduğu yerlere gelmesi için direkt stimulus yapan maddelerdir. Eozinofillerin kemotaksisine neden olan ve Eozinofil Chemotactic factor of anaphylaxis (ECFA) denilen iki tane küçük mol ağırlıklı kemotaktik faktör mevcuttur ve eozinofil ve nötrofillerin olay yerine gelmesine neden olurlar. Bu nedenle deri ve solunum yolları allerjik hastalıklardan özellikle astma, ekzema, Ürtikerde rol alırlar. Allerjen uyarımı sonucu deri ve bronş alveol sıvısında eozinofil artmaktadır.

2.2.4. İmmüoglobulin E Antikoru (IgE)

Erken aşırı duyarlılık reaksiyonunda çok önemli yeri olan IgE'nin moleküler ağırlığı 190.000 olup sedimantasyon katsayısı 8 S'dir (7) ve %12 karbonhidrat içerir, ısıya duyarlıdır. IgE'nin yarılanma ömrü serumda 2-3 gün, deride 7-10 gündür. IgE en az bulunan antikordur. Antijenik uyarı sonucu çok miktarda yapılır. Spesifik IgE antikorları non spesifik IgE antikorlarından daha etkin olarak reseptöre bağlanır. IgE plesentadan geçemez. 11 hafta sonra fetus kendi IgE'sini yapar (44). Glikoprotein yapısındadır ve standart elektroforez kullanıldığında hızla gamma bölgesine hareket eder (4). Tüm immüoglobulinler gibi ikisi hafif ikisi ağır zincir olmak üzere 4 zincirli yapıdadır. IgE'ye özellik veren ağır zincirdir. 5 bölüme sahiptir. IgE'nin Fc bölgesinin bir parçası, mast hücrelerine, bazofillere FcE reseptörlerle bağlanabilme özelliğine sahiptir. Fc bağlanma bölgesi ısıya dayanıksızdır ve 56°C'de 30 dakika ısıtıldığında bozulur. Fab parçasının antijen bağlanan kısmında ısı labil değildir (33). Kanda ve salgılarda serbest bazofillerde ve mast hücrelerinde bağlı olarak bulunur. Bir

mast hücrelerinde ortalama 40.000, maksimum 100 000 IgE molekulu bulunduğu düşünülmektedir. Allerjik kişilerde bu sayı 100 000 ila 500 000 arasındadır (46). IgE yapan plazma hücreleri en çok gastrointestinal sistemde ve solunum sistemi, çevresindeki lenf nodülleri bulunur. Ayrıca tonsil, adenoid, bronşial ve mezenterik lenf nodüllerinin germinal merkezlerinde IgE yapan hücreler vardır. IgE yapımı HLA bağımlı değildir. IgE yapımı Ia kontrol altındadır. IgE yapımında T hücre kontrolü vardır. Timektomize edilmiş hayvanda IgE yapımı artar. IgE yapımında T helper hücrenin arttırıcı, T supressor hücrenin de inhibe edici rolü vardır. Invitro IgE sentezinin IL4 ile arttığı, gamma interferon ile azaldığı gösterilmiştir. IgE sentezi için IL-5, IL-6'ya ihtiyaç vardır. IL-5 eozinofil farklılaşması için gereklidir (19).

IgE yanıtı allerjenin vücuda giriş yerinde oluşan lokal bir olaydır. Bu yer mukozal yüzeyler veya lokal lenf nodları olabilir. Aynı allerjen ile ikinci kez karşılaşıldığında allerjik semptomlarla oluşan olaylar zinciri başlar. IgE üretiminde "antijeni sunan hücreler" aracılığı ile antijenin sunulmasından sonra, T lenfositleri yardımcı etkide bulunarak B-lenfositlerinin stimülasyonu oluşmakta ve IgE üretilmektedir. Lokal olarak üretilen IgE ilk önce lokal mast hücrelerini duyarlastırır ve fazla oluşan IgE dolasına katılır; dolayan bazofillerdeki ve dokularda bulunan mast hücrelerindeki reseptörlere bağlanır. IgE seviyeleri allerjik hastalıklarda (saman nezlesi, yılboyunca olan mevsimsel rinit, astma, atopik ekzema) sıklıkla yükselir, parazitik infestasyonlarda aşırı derecede yüksektir. Çocuklarda ve erişkinlerde yükselmiş IgE seviyesi teshiste yardımcı olur. Fakat normal IgE seviyesi atopiyi ekarte ettirmez (33). Serumda, IgE ölçümü radioimmunoassay, ELISA veya FEIA-CAP yöntemleriyle yapılmaktadır.

2.2.5. Eozinofiller ve Bronşial Astmadaki Yeri

Eozinofiller kemik iliğinde çeşitli faktörlerin etkisi ile farklılaşırlar. Bu faktörler interlekin-1, 3,5 ve GM-CSF'dir (24-11). Farklılaşmadan sonra hücre olgunlaşarak karakteristik morfolojik görünümü kazanır. Eozinofiller esas olarak dokularda yaşayan hücrelerdir. İnsanlarda dokulardaki eozinofillerin dolaşımdakilere göre oranı 100:1'dir. Eozinofiller mast hücreleri gibi daha çok epiteli dışarıya açık olan dokularda bulunur. En çok buldukları yer barsaklar, özellikle kolondur. Buna karşılık akciğerlerde az miktarda bulunurken deride bulunmazlar (21). Hücre membran yüzeyinde IgE, IgG, C3b, Charcot-Leyden kristal proteini (Lizofosfolipid) bulunur. Eozinofillerin, mediatörlerin ve sitokinlerin özelliklerinin ve biyolojik etkilerinin iyi belirlenmesi ile son yıllarda bronşial astmanın patogenezinin anlaşılmasında önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Kemik iliğinde öncü hücrelerden çeşitli büyüme faktörlerinin etkisi ile oluşan eozinofil, dolaşımda yaklaşık 25 saat kaldıktan sonra dokulara göçer. Eozinofil, inflamasyondaki etkisini çeşitli mediatörler aracılığı ile gösterir. Bu mediatörler ve etkileri Tablo III'de belirtilmiştir.

Tablo-III: Eozinofil Tarafından Salgılanan Mediatörler

Mediatör	Biyolojik Etkileri
<u>I. Lipidler</u>	
PGE2	Vazodilatasyon, mukus sekresyonu,
PGD2	Bronkokonstriksiyon, pulmoner vazokonstriksiyon, vasküler permeabilitede artış, trombosit agregasyonu
PGF ₂ α	Bronkokonstriksiyon, trombosit agregasyonu
TxA ₂	Bronşial ve vasküler konstriksiyon, trombosit agregasyonu
LTC4	Bronşial ve vasküler konstriksiyon, vasküler permeabilitede artış
PAF	Bronşial ve vasküler konstriksiyon, bronşiyal ödem, trombosit agregasyonu, mukus sekresyonu, nötrofillerin mast hücrelerinin ve eozinofillerin aktivasyonu
<u>II. Oksijen Metabolitleri</u>	
Superoksit anyon	Oksijen metabolitlerinin her uçü de
Hidrojen peroksit	mikroorganizmalar, tümör hücreleri
Oksijen	ve diğer memeli hücreleri için toksikdir.

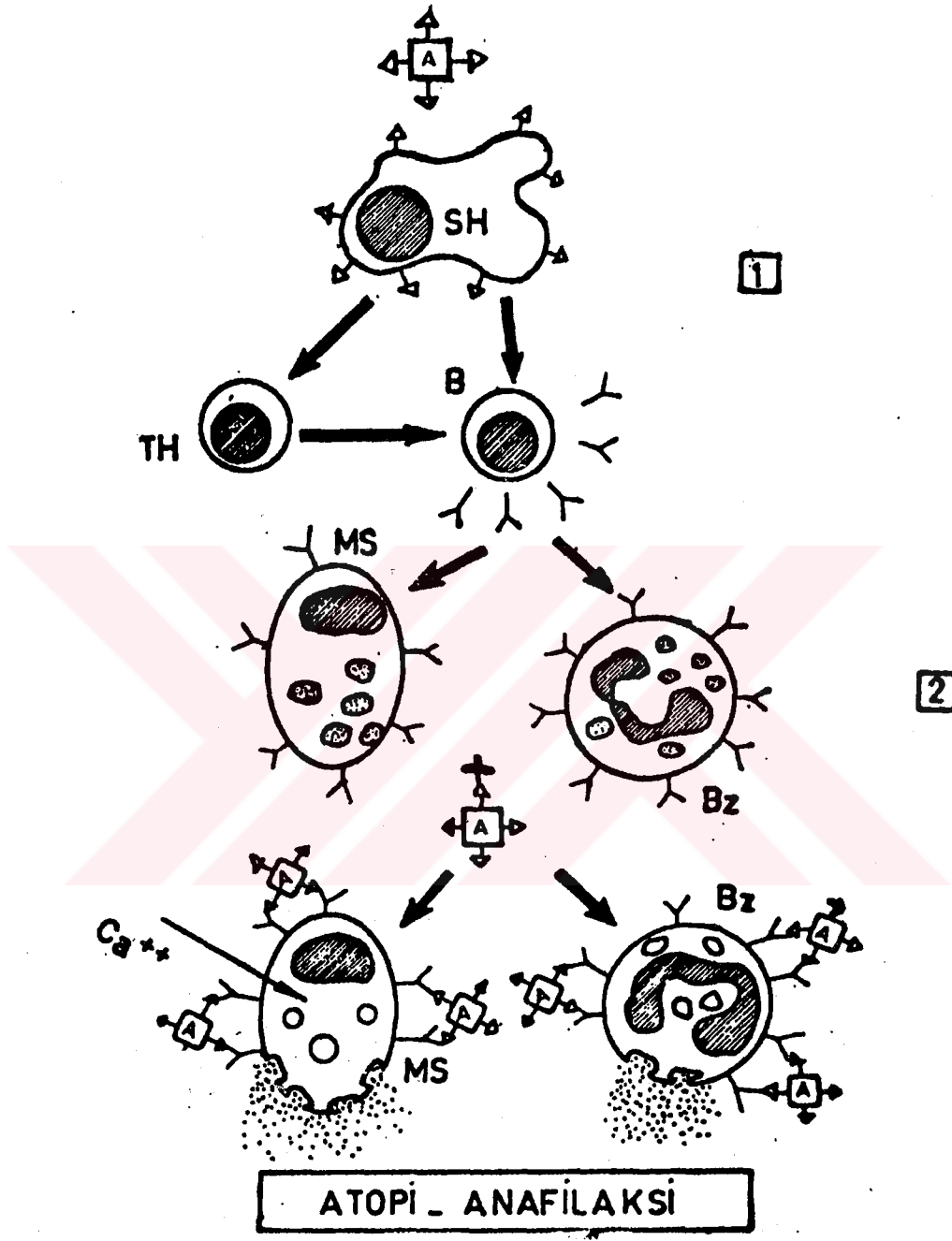
Eozinofiller yıllardan beri, allerjik inflamasyona karşı koruyucu hücreler olarak kabul edilmekteydi. Çünkü mediatörlerin etkilerine ters yönde etki gösteren histaminaz ve arilsülfataz salgılamaktadır. 1979 yılına kadar parazitik inflamasyonda yapılan çalışmalar, eozinofillerin patogenetik rolünün araştırılması için daha iyi metodlar geliştirilmesine yol açmıştır. Akut astmada eozinofiller aktive olmuştur. Allerjenle karşılaşma sırasında, (BAL) bronko alveoler lavaj sıvısındaki eozinofillerin sayısında ve bunların proteinlerinin düzeyinde bir artış bulunmaktadır. Kronik astmada, bronşial biopsilerde, özellikle de örnekler eozinofil katyonik proteinine (ECP) ve/veya major bazik proteinine (MBP) karşı monoklonal antikolar kullanarak yapılan immünohistokimya

yöntemi ile incelendiğinde, eozinofil sayılarında artış bulunmuştur. Eozinofiller genellikle bazal membran altına yerleşmiştir ve bunlar aktive olmuş durumdadır. BAL sıvısındaki ECP titrasyonu ile gösterildiği gibi büyük miktarlarda katyonik proteinler salarlar. Astmalıların çoğunun bronşlarında eozinofiller bulunmaktadır ve aktive olmuş eozinofiller ile astmanın şiddeti arasında anlamlı bir ilişki vardır. Hem allerjik hem de allerjik olmayan astmalılarda bronşiyal eozinofili bulunmaktadır. Bununla birlikte, bu durum astmanın belirleyici karakteristiği değildir. Çünkü, eozinofiller iclerinde kronik bronşitinde bulunduğu pek çok hastalıkta gözlenebilir (9). Status astmatikus da eozinofiller bronş duvarını aşarak bronşiyal lümene geçer (21). Başlangıçta kanda eozinofil sayısı normal bile olsa hastalığın ilerlemesi kaçınılmaz bir şekilde kanda, balgamda ve bronkoalveolar lavaj sıvısında (BAL) eozinofil sayısı ve eozinofillerden kaynaklanan proteinlerin düzeyinde artış göstermiştir (13-15). Periferdeki eozinofillerin sayısı bronşial aşırı cevaplılık, hava yolları direnci ve hastalığın şiddeti ile paralel bir şekilde artar (6-16). Bronşlardaki eozinofillerin düzenlenmesi T lenfositlerine ve onların IL-5 ve granulosit-makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF) gibi sitokinlerine bağımlı görülmektedir. Eozinofiller ve lenfositler endotel hücrelerine bağlanma için aynı yolu kullanabilir; çünkü her ikisi de aktive olmuş endotel hücrelerinde eksprese olan bir adezyon molekülü olan VCAM'ye bağlanabilen alfa-4 integrine sahiptir. Dahası bu iki hücre tipi adezyon moleküllerini arttırmak üzere, aynı mekanizmalarla aktive edilebilir.

Eozinofiller MBP, ECP, EDN (eosinofil kaynaklı nörotoksin) ve serbest O₂ radikalleri gibi yüksek oranda toksik ürünleri serbestleştirmek yoluyla astmada major bir rol oynuyor gibi görülmektedir. Eozinofillerin, epitelin dökülmesinde rol oynadıkları öne sürülmüştür ki, bu da bronşların eozinofil ile induklenen hasarı hipotezini doğrulamaktadır (9). Eozinofil ürünlerinin memeli hücreleri için toksik olduğu gösterilmiştir. Yapılan deneysel çalışmalarda düşük dozda major temel proteinin epitel hücrelerinde dökülmeye ve silier aktivite de bozulmaya neden olduğu yüksek konsantrasyonlarda ise silial ve fırçamsı hücrelerde ileri derecede dökülmeye yol açtığı gösterilmiştir (18).

2.2.6. Mast Hücreleri

Mast hücresi ilk Erlich tarafından bağı dokusu ve subkutan dokuda tanımlanmıştır. Mukozalarda, deri yüzeylerinde ve damar çevrelerinde bulunurlar. İnsan deri ve gastrointestinal yolu mast hücrelerinden zengin olmakla beraber %60'ı solunum yolunda bulunur. İmmünojenik reaksiyonlar dışında 48/80 maddesi polimiksin ve opiat da degranülasyona neden olurlar. Gerek bağı dokusu, gerekse de mukozal mast hücrelerini IgE bağlayan reseptörleri vardır ve antijen ile karşılaşınca mediyatör salgılayarak degranülasyona uğrarlar (19). Mast hücrelerinin aktivasyonunu başlatan olay hücre yüzeyinde bulunan IgE ile antijenin birleşmesidir. IgE antikoru dolasına geçtikten sonra Fc fragmanı ile mast hücresine tutunur. Böylece organizma duyarlı hale gelir. Özgül allerjen organizmaya tekrar girince hücre yüzeyine tutunmuş olan iki IgE molekülüne Fab kısmında köprü yapacak şekilde bağlanır. Mast hücresinde degranülasyon olması, mediatör salınması için bu köprü şeklinde tutunma önemlidir. Bunun sonunda hücreye Ca^{++} girmesi gerekir. Hücrede oluşan reaksiyon sonucunda degranülasyon olur ve mediatörler salınır (Şekil-1) (5). Bu mediatörler ya hücre granüllerinde önceden depo edilmiş mediatörlerdir ve olay anında salgılanır veya sekonder mediatörlerdir (Tablo IV). Bu mediatörler değişik sok organlara etki ederek allerjik rinit, konjuktivit, ekstrensik bronşial astma, Urtiker, atopik egzema gibi klinik bulgulara sebep olur.



Şek.1 Tıp I Aşırı Duyarlık Anafilaksi - Atopi Mekanizması

. Açıklama: A = Antijen, SH = Sunucu hücre, TH = Yardımcı T lenfositler, B = B lenfositler, MS = Mast hücresi, Bz = Bazofil lökosit.

Mast hücreleri astmanın patogeneğinde primer efektör hücre olarak kabul edilirler. Uyaranlarla salınan proinflamatuvar mediatörler direkt ve indirekt olarak hava yolu inflamasyonunu oluştururlar. Mast hücre mediatörleri sekonder efektör hücre ürünlerinin inflamatuvar hücre birikimi, doku hasarı, bronkokonstriksiyon, vasküler permabilite ve mukus sekresyonunda artışa yol açma gibi etkinlikleri vardır (19) (Tablo V).

Tablo-V : Astmada Sekonder Efektör Hücre ve Ürünleri

<u>HÜCRELER</u>	<u>ÜRÜNLERİ</u>
Nötrofiller	Nötral proteazlar Lizozimler Lökotrienler 5-HETE Peroxidaz
Eozinofiller	Eozinofil katyonik protein (ECP) Majör basık protein (MBP) Eozinofil peroxidaz (EPO) Eozinofil arilsulfataz (EAS) Eozinofil-derived nörotoksin (ENT) Platelet aktivasyon faktör (PAF) Lökotrienler
Trombositler	Serotonin Platelet-aktivasyon faktör (PAF) Superoxidaz Lizozimler Tromboksan Prostaglandinler
Makrofajlar	Superoxid Lökotrienler Lizozimler 5-HETE

Mast hücreleri, hem normal kişilerin hem de astmalıların bronşlarında bulunmuştur. Mast hücreleri sıklıkla, kan damarlarının yanında bulunur ve bronşial düz kasla yakından ilgili görülür. Astmalılarda mast hücrelerinin BAL sıvısındaki artmış triptaz, histamin ve PGD_2 düzeylerinin varlığının düşündüğü immunohistokimya ile gösterildiği gibi granülleri ortadan kaldırmıştır. Mast hücrelerinin akut astma atakları sırasında kritik gibi görünmektedir. Histamin ve diğer vazoaaktif mediatörlerin aracılarının salınımı akut bronkokonstriksiyon ödem ve mukus salgılanmasını sağlar. Bununla birlikte mast hücrelerinin rolü astma ile sınırlı değildir. Çünkü bunlar, inflamasyonu düzenleyen yardımcı T hücre $Th-2$ benzeri sitokinler ve immuno-modülatör aktiviteleri olan inflamasyon öncesi aracılar salar (9) (Tablo-IV).

Tablo-IV : Mast Hücre Mediatorleri

1. Aktivasyondan hemen sonra salgılanan depolanmış mediatorler:

Histamin	Superoksid
Eozinofil Kemotaktik faktör	Eksoglikozidaz
Nötrofil Kemotaktik faktör	Serotonin
Kininojenaz	Triptaz
Arilsulfataz A	Kimotriptaz

2. Aktivasyondan hemen sonra yeni sentezlenerek salgılanan Mediatorler:

Lökotrienler
Prostaglandinler
Tromboksanlar
Hidroperoksikosatetraenoik asidler (HPETEs)
Monohidroksieikosatetraenoik asid (HETEs)
Prostaglandin-generating faktor
Platelet-aktive edici faktor (PAF)
Adenozin
Superoksid

3. Depolanmış olan, fakat aktivasyondan hemen sonra granülden ayrılmayan mediatorler.

Heparin	Peroksidaz
Tripsin	Superoksid dismutaz
Kematripsin	Arilsulfaz B
Anaflakside inflamatuvar etkili maddeler.	

2.3. ATOPIK ALLERJENLER

Allerjenler vücuda havadan solunum yoluyla, yiyecek ve içeceklerle, sindirim kanalından veya doğrudan vücutun dış yüzeyine temas ederek deri yoluyla girebilirler. Allerjenler kimyasal, doğal ya da sentetik maddeler olabilirler. Çeşitli allerjenler arasında bitki polenleri, besinler, çeşitli ilaçlar, antibiyotikler, yapay besin boya maddeleri, koku ve tat vericiler, değişik tipte parfüm ve kozmetik ürünler ile sentetik tekstil ürünleri gibi kimyasal maddeler, bakteri, parazit ve virus gibi mikroorganizmalar, evlerde beslenen kedi, köpek gibi hayvanların deri ve kıl döküntüleri ile kafes hayvanlarının tüyleri ve ayrıca at kılı, depo kenesi, hamamböceği vb. antropodların yumurta ve cesetleri ile ev tozu kenelerinin yanı sıra küf mantarı, spor ve hif parçaları da bulunmaktadır (23).

2.3.1. Polenler

Polen taneciği tohumlu bitkilerin üremesi için gerekli olan erkek eşeyssel hücredir. Allerjik polenler çiçek açan bitkilerden rüzgar aracılığı ile yayılır. Rüzgarla polenlerin yayılımı böcekler aracılığı ile yayılan polenlere göre daha kısa mesafeli olur. Ancak rüzgarla yayılım da bol miktarda polen söz konusudur. Belirli bir bölgede bulunan ağaçlar, ot ve yabancı bitkiler belli mevsimlerde tozlaşma yaparlar (27). Renkli çiçekli bitkiler az miktarda ağır ve yapışkan polen ürettiğinden çiçek tozlarının taşınması böceklerle olur. Çayır, ot ve ağaçların çoğu bol miktarda rüzgarla yayılan polen üretirler. Allerjik hastalıkların etyolojisinde rol oynayan bu polenlerdir. Değişiklikler göstermekle birlikte ağaçlar ilk bahar başlangıcında, çayırlar ilkbahar ve yaz başlangıcında, otlar ise yaz ve sonbaharda polenlerini atmosfere yayarlar. Hastaların çoğunda belirtiler polen sayısı metreküpte 25-50'ye ulaşınca görülmeye başlar. Polenler bitki türlerine göre yuvarlak, yassı,

Uçgen veya kanatlı şekildedir. Polen taneciklerinin boyutları 20-60 mikrometre arasında olduğundan, alt hava yollarına ulaşmaları zordur. Bu nedenle bronş astmasına hangi yolla neden oldukları açıklık kazanmamıştır. Polen parçalarının alt hava yollarına ulaşarak immünolojik reaksiyonlara yol açtığı sanılıyor (17).

2.3.2. Kuf Mantarları

Allerjik hastalıklara neden olan etkenler arasında polenlerden sonra ikinci sırayı atmosferdeki mantar sporları ve onlara ait hafif parçacıklar alır (8). Mantarlara ait bu yapılar polenler gibi astmaya neden olurlar. Mantarlar çevrede bol bulunan ve çok hücreli ve ökaryotik organizmalardır. Saprofitikdirler ve ölü yada çözülmüş artıklar üzerinde ortaya çıkarlar. Büyümeleri ısı ve nem ile ilişkilidir. Atopik bir çok hastada hastalığın sebebi mantar sporlarına karşı allerjidir. Ancak kesin tanı mantarların morfolojik yapısı üreme özellikleri ve çevresel faktörler sebebiyle güçtür. İmmünolojik testlerde bazı cins mantarları saf olarak göstermek zordur (27). Besin kaynağı olarak kullanılan organik maddelerin bulunduğu her yerde mantarlar mevcuttur. Kuf mantarlarının doğadaki yayılışları onların her çeşit besin maddesini substrat olarak kullanmaları ile veya her yerde bulunmaları ile bilinirler (1). Jeomantar olarak bilinen toprak kaynaklı küflerin atmosferik olaylarla toz bulutları halinde geçmesi ve bir yerden diğer bir yere taşınmalarıyla hava kaynaklı küfler meydana gelir.

Toprak ve su mantarları için iki önemli ayrım vardır. Her yerde ve her çeşit besin maddesi üzerinde gelişen kuf mantarları geliştikleri yerden toprağa, topraktan havaya karışarak dünyanın dört bir tarafına yayılmışlardır (38).

2.3.3. Ev Tozları

Ev tozu basit yapıda bir allerjen olmayıp, özel bir ortamda canlı ve cansız birçok materyalin artık ve parçalanma ürünlerinin birikiminden oluşur. Bir evdeki tozun özellikleri ısı, nem ve diğer etkenlere bağlı olarak değişiklikler gösterir (17). Ev tozları ve bunların zerreleri (*Dermatophagoides pteronyssinus* ve *farinae*) tüm dünyada kesin olarak evdeki büyük allerjen olarak kabul edilmiştir ve pek çok yerde astmayla ilişkili bir allerjendir. Toz zerreleri mikroskopik organizmalar olup insan deri döküntüleri ile beslenirler ve genellikle halıda, siltede, mobilyalarda ve doldurulmuş hayvanların üzerinde bulunur. Ev tozları her iklimde bulunmalarına rağmen %50 nem ortamında daha iyi yaşam imkanı bulur. Yükseklerde ve kuru kış aylarında ev tozlarının miktarı azalır (32).

2.3.4. Besin Allerjisi

Besinlere karşı allerjik reaksiyonlar bütün yaş gruplarında görülür. En sık bebeklerde ve çocukluk çağında görülür. Besin allerjisinin klinik belirtileri oldukça değişkenlik gösterir. Belirtiler klasik allerjik semptomları içerebilir (örneğin; sistemik anaflaksi, astma, urtiker, rinit, anjiödem, atopik dermatit) veya sadece lokal bir etki ile sınırlı kalabilir. Sıklıkla acil hipersensitivite reaksiyonlara yol açan besinler, yumurtalar, inek sütü, kuru yemişler, buğday, soya ürünleri, alabalık, kabuklu deniz hayvanlarıdır. Besin mukoza ile temas ettiği zaman dudaklar da oral mukoza da ve farinks de ödem ve kaşıntı ortaya çıkar. Besin, gastrointestinal kanalda ilerledikçe, bulantı, kusma, şişkinlik, gaz, ishal ve karın ağrısı ortaya çıkar. Dışkıda kan kaybı, protein kaybettirici enteropati ve eozinofilik gastroenteritler besin allerjileri ile birlikte görülebilir. Lokal allerjik reaksiyonlar sık olarak gastrointestinal kanal dışında

ortaya çıkar. Dermatolojik ve solunum yolu belirtileri, özellikle Urtiker, anjiödem, egzema, astma ve rinit en sık görülen lokalize, ekstra intestinal semptomlardır. Sistemik anafilaksi besin allerjisinin en korkulan sonucudur. Suçlanılan besinin alımından sonra genellikle bir saat içinde ortaya çıkar ve bir allerjik prodrom olmaksızın aniden görülür. Besin allerjisine bağlı anafilaksi diğer herhangi bir ajanın yol açtığı anafilaksiden farklı değildir ve siyanoz, anjiödem, dispne, hipotansiyon ve kardiyovasküler şoka yol açar (39,35).

2.4. BRONŞIAL ASTMA

Bronşial astmanın özelliği olan geriye dönüşlü hava yolu tıkanması, bronş düz kaslarında kasılma, mukoza ödemi ve aşırı mukus salgılanmasının etkileri bir araya gelince ortaya çıkar. Bu durumu bir veya daha fazla uyaran başlatabilir. Hava yolları allerjenler, viral respiratuar enfeksiyonlar, kimyasal ilaçlar veya gıda katkıları, egzersiz ve soğuk hava gibi çeşitli faktörlere karşı aşırı yanıt verebilir. Bu yüzyılın daha ilk başlarında astma atağında ölen hastalarda yapılan ilk patolojik çalışmalar, eozinofil inflamasyonunu ve epitel dökülmesini (deskumasyon) tanımlamış olmasına rağmen, yıllarca primer mekanizmanın bronkospazm, mukoza ödemi, aşırı ve mukoz sekresyonun temel rolü oynadığı bronşial tıkanma olduğu düşünülmekteydi. Bu nedenle tedavinin önceliği bronkodilatasyon sağlamaktı. Bununla birlikte; 80'li yılların başından itibaren eozinofillerle infiltrasyonu (eozinofili) içeren inflamasyon, kronik deskumatif bronşit formunda daha da önemli bir problem olarak görülmektedir (9). Hereditör durum incelendiğinde, astmanın heterojen özellikte olduğu gözlenir. Astma öyküsü sık görülmekle beraber, her astmalı hastada astma veya diğer allerjik hastalıklar ile ilgili pozitif aile öyküsü yoktur. Penrose, astmanın genetiğinin multifaktöriyel olduğunu, burada birçok genin birlikte rol oynadığını bildirmiştir (45). Astmanın Türkiye'de görülme oranı: %1.2-2,3 olarak rapor edilmiştir. A.B.D'de yaklaşık %4,5 bulunmuştur (29).

2.4.1. Astmanın Sınıflandırılması

Astma ataklarına yol açan uyaranlara dayanarak astma klasifikasyonu çeşitlidir. Tıp literatüründe aşağıdaki şekilde tasnif edilmiştir.

- 1- Ekstrinsik Astma (Allerjik, Atopik, İmmünojenik astma)
- 2- İntrensik Astma (Nonallerjik veya idiyopatik astma)
- 3- Mikst Astma
- 4- Aspirin ile Oluşan Astma
- 5- Mesleksel Astma
- 6- Eksersiz ile Oluşan astma

I- Ekstrinsik Astma

Bu form astma ailevi olması itibariyle atopik astma da adı verilir. Ekstrinsik veya allerjik astma allerjenlere karşı gelişen ani tipte hipersensitivite reaksiyonunun neden olduğu astma şeklidir. Herhangi bir yaşta başlabilmekle birlikte, en fazla 3-45 yaşları arasında ortaya çıkar. Çocukluk çağında astmalı hastaların %90'ından fazlası allerjik astma grubuna girerken, erişkinlerde bu oran %50 kadardır. Hastalığın en sık rastlanan nedeni solunum (inhalasyon) ile alınan allerjenlerdir. Bunlar arasında polenler, mantar sporları, ev tozu, ev tozu akarları (mite), hayvan deri, tüy ve diğer döküntüleri sayılabilir. İntrensik astmada seyrek olarak rastlandığı halde ekstrinsik astmaların %50-75'inde serum İgE düzeyleri yüksek bulunur. Ekstrinsik astması olan hastaların çoğu atopik olup iyi tanımlanmış çeşitli allerji şekilleri ve olasılıkla %50 bronşiyal astma şeklinde aile öyküsü vardır. Allerjik astma genellikle ataklarla seyreden ve klinik gidis ve seyri intrinsik astmaya göre daha iyi olup bronkodilatörlere cevabı daha belirgindir. Genellikle bu ekstrinsik astma; allerjik rinit ve atopik dermatit gibi diğer organ allerjileri ile birlikte görülür (29,17). Ekstrinsik astmanın önemli bir sebebi olan yiyecekler 2

yaşından sonra nadiren etkili olurlar. Astmaya sebep olan yiyeceklerin en önemlileri fıstık, yumurta, süt, kabuklu hayvanlar ve soyadır. Allerjik astmanın semptomları mevsimsel veya sürekli olabilir (30).

2. İntrinsik Astma

Bu astma türüne aynı zamanda idiyopatik veya nonallerjik astma da denir. Bu tip astma IgE ile ilgili değildir. Erken çocukluk dönemi veya 50 yaşından sonra başlayan astma nöbetleri halinde görülür. Genellikle bronkopulmoner veya sinüzit enfeksiyonu ile başlar. Polen veya diğer inhalatlarla ilgili olmadığından intrinsik adı verilir. Erişkin yaştaki astma hastalarının muhtemelen %30-50 kadarında enfeksiyon, tahriş ediciler, duygusal faktörler gibi allerjik nitelik taşımayan faktörler etkisini göstermektedir (29). Bu astma türünde akciğerde meydana gelen bronkonstriksiyon allerjen veya polenlerle ilgisi yoktur. Kanda ve balgamda eozinofili mevcuttur. Ailede allerjik hastalık öyküsü yoktur. Etiyolojisi tam olarak bilinmemektedir (27).

3- Mikst Astma

Hem ekstrinsik hem de intrinsik astma türü birlikte görülür. Önce ekstrinsik şekilde başlayıp sonra intrinsik şekilde devam eden astma türüdür (29). Genellikle her hastada mekanizmadan biri diğerine göre daha ağırlıklıdır. Mikst astma oluşmasında ani tipte hipersensitivite ile intrinsik faktörler rol oynar.

4- Aspirin ile Olusan Astma

Instrinsik astma kliniği gösteren bir grup astmalı, sinuzit, nezle ve nazal polip triadını birlikte gösterir ve bu aspirin ile artar. Bu şikayetler başlangıçta hafiftir ama sonra kötüleşir ve anafloktoid semptomlara kadar varabilir. En küçük doz aspirin astma nöbetine sebep olabilir. Kan, balgam, burun ve dokuda eozinofilia belli başlı özelliğidir. Nazal polip, astma ve aspirin intolerans tipik özelliğidir ve "aspirin triadı" adı da verilir (29).

5- Mesleksel Astma

Çalışma ortamındaki toz, duman, gaz, aerosol veya buharın inhalasyonuna bağlı olarak ortaya çıkan astmaya mesleksel astma denir. Tüm astma olgularının %2'sinin mesleksel olduğu tahmin edilmektedir. Önceleri sadece organik tozlarla olduğu bilinen mesleksel astmanın değişik mekanizmalarla olmak üzere kimyasal bileşiklerle de oluşabileceği anlaşılmıştır. Günümüzde yüzlerce kimyasal maddenin mesleksel astmaya neden olduğu kanıtlanmış olup bu listeye sürekli yenileri eklenmektedir (28).

6- Eksersiz ile Olusan Astma

Bronş astmalı kişilerin çoğunda fizik egzersizden veya hiperventilasyondan sonra gelişen havayolu obstrüksiyonuna, egzersiz veya hiperventilasyona bağlı astma denir. Egzersiz bronkospazma sebep olan iyi tesbit edilmiş nonimmünolojik stimullardanıdır. Çocuk ve adolesan çağında atopik astma içinde bir faktördür. Egzersizin bronkospazma neden oluş mekanizması belli değildir. Fakat intratorasik hava yolunda bronşlarda ısı ve

rutubetin düşmesi bronkospazmı başlatıcı sebebi olduğu bilinmektedir (29).

Bronş astmalı hastalarda egzersizden hemen sonraki birkaç dakika içinde başlayan ve 3-15 dakika sonra önemli düzeye çıkan bronkospazm oluşur ve birkaç saat içinde de ortadan kalkar (2).

2.4.2. Patogenez

Bronş astması patogenezinde yakın zamana kadar başlıca 2 ana etkenin üzerinde duruluyordu. Bu iki etken bronş aşırı duyarlılığı (hiperreaktivitesi) ve atopi idi. Ancak bu etkenlerin oluş mekanizmalarında kesin görüşler yoktu. Astmalı hastaların solunum yollarının bazı kimyasal ve fiziksel uyarılara yanıtının normale göre çok arttığı ve olayın temelinde bu özelliğin bulunduğu atopinin ise yalnız ekstrinsik (allerjik) astma olarak var olduğu biliniyordu. Bugünkü bilgilerimize göre, astma nöbetinin gelişimini şu bölümlere ayırabiliriz (12).

- A. Bronko-Obstrüksiyon Dönemi
- B. İnflamasyon Dönemi
- C. Hiperreaktivite Dönemi (Aşırı cevaplılık dönemi)

Atopik bünye genetik bir yatkınlıkla IgE üreten bu antikolar aracılığı ile allerjik hastalıkların olduğu bünye olarak tanımlanabilir. Allerjik astmanın gelişmesi için de herediter olarak, kazanılmış atopik bünyeye sahip olmak gerekir. IgE antikolarının yapımında genetik özelliklerle birlikte çevresel faktörlerin de önemi vardır. Her spesifik IgE yapan insanda allerjik astma görülmez. IgE antikoları spesifik allerjenik uyarılara cevap olarak B lenfositleri ve plazma hücrelerinde sentez edilir. Bu yapım baskılayıcı ve yardım edici T lenfositlerinin kontrolü altında gerçekleşir. IgE molekülleri mast ve bazofil hücreleri yüzeyindeki Fc reseptörlerine bağlanarak bunların duyarlı hale gelmesine neden olur (17).

Şimdilerde astmada artmış yanıtın altında yatanın kronik inflamasyon olduğuna inanılmaktadır. Astma atağında ölen hastalarda, bronşiyal epitel genellikle görülmektedir, ki bu durumda mukozanın esas hücreleri (her biri normal olarak 300 kadar siliya sahip silialı hücreler ve mukus salgılayan goblet hücreleri) bazal membran üzerinde sadece bozulmamış bir bazal hücre tabakası bırakarak ayrılmaktadır. Yaşayan astmalılarda ciddi olgularda hafif olanlarda daha sık olmasına rağmen yine de neredeyse sürekli epitel değişiklikleri bulunmaktadır. Epitel dökülmesinin sonuçlarının, astma patogenezinde büyük öneme sahip olması olasıdır. Hücreler arası boşluktaki oluşan epitel dökülmesi ve diğer epitel hasarı bronşiyal hiperraktiviteyle uyum göstermektedir. Bronş epitelinin kaybı, sinirleri ve mast hücrelerini açığa çıkarmaktadır. P maddesi ve kininler gibi nöropeptidler ile bunların endojen NEP (sinir hücrelerinden salınan nöropeptitleri yıkan nöral endopeptitazlar) ile degradasyonunu da içeren nörolojik inflamasyon rolü önemli olabilir (9). Astmalı ve bronşitli kişilerin bronşiyal epitel hücrelerinde 15-lipoksijenaz antijeninin düzeylerinin arttığı gözlenmiştir ki bu 15-lipoksijenazın solunum yolu inflamasyon hastalığı ile ilişkilendiği fikrini vermektedir. Bozulmamış epiteli olan astmalı hastaların epitel hücreleri arasında artmış sayıda inflamatuvar hücreleri bulunmaktadır. Bunları granülü ya da degranüle eozinofiller, lenfositler, lenfosit ile plazma hücreleri arası geçiş formları, aktive olmuş makrofajlar ve kısmen degranüle mast hücreleri meydana getirmektedir. Uzun yıllardır hasta olan, ağır astmalı hastalarda nötrofillerde bulunmuştur. Bunlar allerjenlerin ve spesifik olmayan uyarıcıların kolaylıkla ulaşabildiği hedef hücrelerdir.

Astmatik bronşların diğer tipik bir özelliği ise bazal membranın görüldüğü derecede artmış kalınlığıdır. Yalancı kalınlaşma, olasılıkla hava yollarının fibrozuna yol açan miyofibroblast aktivasyonunun bir sonucu olarak ortaya çıkan immüoglobulin ve/veya kollojen III ve V fibronektin birikimine bağlıdır.

Normal bireylerde epitel hücreleri sınıf II antijenleri taşımakta ve bu nedenle olasılıkla lenfositlere antijen sunmaktadır. Astmalılarda, epitel hücreleri artmış sınıf II antijen

ekspresyonu göstermekte fakat antijen sunumunun artmış olup olmadığını belirlemek için gerekli veriler bulunmamaktadır. Astmanın deskuamatif bir bronşit olduğu doğrulanmıştır. Epitel hücreleri, çeşitli yollarla astmanın fizyopatolojik mekanizmasına katılmaktadır. Epitelin onarımının daha ileri bir düzeyde araştırılmasına gereksinim vardır.

Normal olarak bulunan infiltrate olan çeşitli hücreler, astmada kronik havayolu inflamasyonunun başlatılması ve devamlılığının sağlanmasında rol oynamaktadır. Her bir hücre tipi, direkt inflamatuvar etkisi olan veya diğer hücreleri aktive eden ya da kendine çeken histamin, lökotrienler, prostaglandinler, çeşitli interleükinler ve diğer sitokinler (GM-CSF, PAF, TNF) gibi pek çok inflamatuvar bileşiği salmaktadır. Bu gibi hücrelerin ve mediatörlerin zararlı etkileri ile ilgili bilgiler hızla artmaktadır. Fakat şu ana kadar bronşial mukozanın tamirindeki rolleri ile ilgili çok az şey bilinmektedir (9).

Bronşial mikrodolaşımın astmada temel bir rolü vardır. Histamin, eikosanoidler, trombosit aktive edici faktör, nöropeptidler ve sitokinler gibi inflamatuvar medyatörlere yanıt olarak bronşiyal duvar inflamasyona uğrar. Bu da mikrovasküler sızıntıyı ve hava yollarına plazma eksüstasyonunu artırmaktadır. Plazma protein sızıntısı, lokal konak savunmasının önemli bir mekanizmasıdır, çünkü hasar görmüş dokudaki ekstravasküler kompartmana kompleman proteinlerinin ve antikorların ulaşmasını sağlamaktadır. Bununla beraber, normal koruyucu inflamatuvar yanıt uygun olmayan bir şekilde tetiklendiğinde ya da arttığında doku ödemi oluşur. Bu da hava yollarının fizyolojik fonksiyonunun tehlikeye girmesine yol açar. Plazma protein sızıntısı hava yolu duvarının kalınlaşmasına ve hava yolu lümeninin daralmasına neden olur. Ödem aynı zamanda, epitel hücrelerinin yer değiştirmesine ve mukus tıkaçı oluşmasına katkıda bulunabilir. Dahası; vasküler endotel hücrelerinin, havayolları submukozasına inflamatuvar hücrelerin yayılmasında temel rolü vardır. Eozinofil ve monositler gibi infiltrate olan inflamatuvar hücreler dolaşıma geçer ve hızla dokuya doğru göç eder. Diapedez olarak adlandırılan işlem kandan dokuya doğru yayılım bu hücrelerin endotel hücrelere yapışmasını ve takiben inflamasyona uğramış dokuya doğru göçünü içerir. Normal

endotel hücreleri, adezyon moleküllerine aracılık etmek için inflamatuvar hücrelerle etkileşebilmektedir. Fakat bu ICAM-I (intraselüler adezyon molekülü), ELAM-I (endotel hücre lökosit adezyon molekülü veya E-Selektin) veya VCAM (vasküler adezyon molekülü) gibi özelleşmiş adezyon moleküllerinin artmış ekspresyonunu indükleyen inflamatuvar sitokinlerle (Interlökin (IL-1,4,5) gama interferon (IFN) ve tümör nekroz faktör alfa (TNF α) arttırılmaktadır (9).

2.4.3. Astma Krizinin Oluşumu

Bir astma krizinde başlıca olay, düz adale lifinin kontraksiyonudur. Düz adale hücresinin kontraksiyonu (kasılması) ve gevşemesi bazı hücre içi mediyatörlerle oluşmaktadır. Bunlar bronş düz adale hücresinde ve inflamatuvar hücrelerin metabolizmaları sırasında meydana çıkmaktadır. Nükleotid vasfındaki bu maddeler biri kasılmayı diğeri gevşemeyi temin eden iki sistem oluşturmaktadır.

Kasılmayı yapan:

GTP (guanidin trifosfat) $\rightarrow\rightarrow\rightarrow$ 3',5' GMPc (3',5' guanidin monofosfat siklik) $\rightarrow\rightarrow\rightarrow$ GMP inaktif (etkisiz madde)

Gevşeme yapan:

ATP (adenozin trifosfat) $\rightarrow\rightarrow\rightarrow$ 3',5' AMPc (3',5' adenzinmonofosfat siklik) $\rightarrow\rightarrow\rightarrow$ 3',5' AMP inaktif

Burada esas etkili maddeler 3',5' GMPc ve 3',5' AMPc'dır. Bu iki etkili maddenin inaktif hale gelmesi fosfodiesteraz enzimi aracılığı ile olmaktadır. Gerek gevşeme, gerekse kasılma için bir Ca⁺⁺'a ihtiyaç bulunmaktadır. Kasılmada Ca⁺⁺ hücre içine girerken gevşeme de tersi yönde hareket etmektedir. Bu iki hücre içi mediatör sisteminden birinin artışı diğेरinin azalmasına sebep olmaktadır. Birin hücre içinde öncelik kazanması hücre membran

reseptörlerinin uyarılması ile oluşmaktadır. Bu reseptörlerin uyarılması mediatörler ve inflamatuvar hücrelerin oluşturduğu aracı maddeler tarafından olmaktadır.

Bu reseptörleri ikiye ayırabiliriz.

a. GMPc sistemini harekete geçirerek düz adale hücresinde kasılma oluşturanlar

- Kolinerjik Reseptörler
- Histamin Reseptörleri
- Prostaglandin F₂ alfa reseptörleri
- Bradikinin reseptörleri
- Serotonin reseptörleri
- SRS A (yavaş etkili madde) reseptörleri
- α Adrenerjik reseptörleri

b. AMPc seviyesini artırarak düz adale hücresinde gevseme oluşturanlar.

- β Adrenerjik reseptörler
- E₂ prostaglandin reseptörler (12).

2.5. ELISA

Önemli biyolojik veya farmakolojik özellikleri olan maddeleri göstermek ve miktarını tayin edebilmek için bugün immün deneyler kullanılmaktadır. Böylece yüksek oranda duyarlılık ve özgüllük kazanılmıştır. Çünkü antijenler antikorlara özgül yüksek affinitiyile ve dönüşümlü olarak bağlanır ve antijen veya antikorlara izotoplar, fluorophore, ferritin, serbest radikaller bakteriyofajlar ve enzimler gibi maddeler bağlanarak duyarlı bir ölçüm sağlanabilir. Bu amaçla izotoplar yaygın olarak kullanılmasına rağmen enzimlerin kullanıldığı ve izotoplarla yapılan ölçümler kadar duyarlı ve özgül immün deneyler hızla çoğalmaktadır (3).

Enzimlerin işaret olarak kullanıldıkları ilk uygulamalar enzim antikor konjugatlarının kullanıldığı ve antijenik hücresel yapıların ışık veya elektron mikroskopta yerleşimlerinin test edildiği deneylerdir. Daha sonra Engvall ve Perlman sonra da Weemen ve Schuurs tarafından enzim-antijen ve enzim-antikor konjugatlarının kullanıldığı immün deneyler bildirilmiştir. Bunların birçok uygulamaları ve enzim-immunoassay tekniklerinin modifikasyonları klinik tıpta ve araştırmalarda kullanılmaya başlamıştır (10).

Enzim immün deneyler (EIA) iki gruba ayrılırlar.

1- Heterojen EIA= Bunda enzim aktivitesinin ölçülmesinden önce enzimle işaretli antijen veya antikor antijen-antikor kompleksinden ayrılır.

2- Homojen EIA= Bunda işaretli antijenen enzim aktivitesi, işaretli antijen-antikor kompleksi varlığında ölçülür.

ELISA (Enzim-Linked Immunosorbent Assay) bir heterojen EIA'dır. ELISA, RIA ile aynı prensiplere dayanır. ELISA ve RIA arasındaki tek fark, antijen veya antikoru işaretlemek için RIA'da kullanılan radyoaktif izotop yerine ELISA'da bir enzimin kullanılmasıdır. RIA'da kompleks oluşturmamış (serbest) radyoaktif işaretli antijen veya antikor, radyoaktif işaretli antijen antikor, kompleksinden ayrılır ve daha sonra ölçüm yapılır. ELISA'da da enzim işaretli antijen antikor kompleksinin, enzim işaretli serbest

antijen veya antikordan ayrılması gerekir. Bağlı veya serbest kısımdaki enzimatik aktivite renksiz veya floresansız bir substratın renkli veya floresanslı bir ürüne dönüşmesiyle kantitatif bir sonuç elde edilmiştir.

RIA'ya göre ELISA'nın birkaç avantajı vardır. RIA'da en çok kullanılan izotoplar olan ^{125}I ve ^{131}I 'in yarı ömrü kısadır ve genel olarak radyoaktif ürünlerin moleküler yapı üzerinde yıkıcı bir etkisi vardır. RIA çalışması sırasında radyoaktif izotopların sağlığa zararlı olmasından dolayı bazı özel önlemler alınması gerekir. Buna karşın enzim işaretli maddelerin böyle bir zararı yoktur. Daha uzun ömürlü ürünler ve substrat değişimi ELISA'da yükseltici bir etki sağlar (50)

ELISA tekniğinin bir sınırlaması, enzim işaretli reaksiyonların kontrolünün yapılamamasıdır. Daha da ötesinde, enzim işaretli bir maddenin saflaştırılması çoğunlukla zordur veya pratik değildir (10).

2.5.1. Elisa Tekniklerinin Sınıflandırılması

ELISA deneyleri yarışmalı (kompetatif) ve yarışmalı olmayan (non-kompetatif) immünoenzim yöntemleri olmak üzere ikiye ayrılır. Yarışmalı yöntemde işaretli olmayan antijen ile bir enzime bağlı antijen veya antikor, solid faza bağlı olan sınırlı sayıdaki bağlama bölgeleriyle reaksiyona girmek için yarışmaya girerler. Yarışmalı olmayan yöntemle ise ölçülecek olan antijen veya antikor tek başına, çok miktardaki bağlanma noktası ile reaksiyona girer.

2.5.2. A- Yarışmalı ELISA Yöntemleri

1. Antijen-enzim konjugatının kullanıldığı yarışmalı yöntemde birinci işlem antikorun solid faza fiziksel veya kimsyal olarak bağlanmasıdır. Bağlanmamış antikorun yıkanmasından sonra belirli konsantrasyondaki enzim işaretli antijenle, test edilecek antijen birlikte eklenir. Yıkamadan sonra, enzim substratı eklenir ve reaksiyon durdurulup ortaya çıkan renk bir kolorimetre veya florometrede okunur.

2- Enzim işaretli antikorun kullanılması

Bu yöntemde antijen solid faza bağlanır ve reaktif ajan olarak enzim işaretli antikor kullanılır. Enzim işaretli antijenle yapılan yarışmalı ELISA yöntemindeki gibi, son basamakta ölçülen konsantrasyonlar standart veya test antijenlerinin konsantrasyonları ile ters orantılıdır. Burada enzim işaretli ikinci bir antikor kullanılır. Bu ikinci antikor hayvan türleri için özgül olan anti Ig-G'dir. Bu yöntemde işaretsiz antikor konur ve antijen-antikor kompleksi daha sonra enzim işaretli anti IgG ile bağlanır (10).

2.5.3. B- Yarışmalı Olmayan Yöntemler

Yarışmasız ELISA teknikleri, test antijeninin fazla miktardaki antikorla reaksiyona girdiği immünoenzimatik deneylerdir ve antijen-antikor reaksiyonunun miktarı ikinci basamakta ölçülür. Bu deneyler antijen valansına göre sınıflandırılırlar. Tek yönlü yarışmasız ELISA deneyi tek valanslı bir antijene, çift yönlü veya sandvic yöntemi yalnızca iki veya çok valanslı antijenlere uygulanır.

1- Tek Yönlü Yarışmasız Yöntem

Bu yöntemin iki tipi vardır ve bunlar yarışmalı ELISA'nın modifiye olmuş şekilleridir. Birinci tipinde enzim işaretli antijen gerektirir. Ancak işaretli ve işaretsiz antijenleri birlikte solid faza bağlı antikorla inkübe etmek yerine standart veya test antijenleri yalnızca çok miktarda immobilize olmuş antikorla inkübe edilir. Yıkandıktan sonra ortama çok miktarda enzim işaretli antijen eklenir ve reaksiyona girmemiş immobilize antikora bağlanması için bekletilir. Geri kalan işlemler aynıdır. Enzim ürünü konsantrasyonu standart veya antijeni konsantrasyonu ile ters orantılıdır.

Tek yönlü yarışmasız ELISA deneyinin ikinci tipi; yarışmalıdaki gibi enzim işaretli antikor gerektirir. Standart veya test antijeni çok miktardaki enzim işaretli antikorla inkübe edilir. Dengelenmiş reaksiyon karışımı daha sonra çok miktardaki immobilize antijen üzerine eklenir ve reaksiyona girmemiş enzim işaretli antikorlara bağlanması sağlanır.

Tek yönlü ELISA'nın her iki tipinde de ikinci inkübasyon yeterince kısa olmalı ki, enzim işaretli antijen antikor kompleksi önemli miktarda ayrışmaya uğramasın. Ayrıca yöntem yüksek affiniteli bir antikor kullanılmasını gerektirir. Ancak bu yöntemin deney duyarlılığı ve enzimin test örneğindeki yıkıcı maddelerden korunması bakımından diğer ELISA metodlarına üstünlükleri vardır.

2- Çift Yönlü veya Sandviç Yöntemi

Yarışmasız ELISA yönteminde solid faza bağlanmış antikor, standart veya test antijeni ile inkübe edilir. Yıkandıktan sonra immobilize olmuş antikor-antijen kompleksi çok miktardaki enzim işaretli antikorla inkübe edilir. Alternatif olarak bu ikinci antikor işaretsiz olabilir ve üçüncü bir, enzim işaretli antikor ile inkübe edilir ki bu ikinci antikor hayvan türü IgG'si için

özgüldür. Bu durumda immobilize antikor ile ikinci antikor farklı hayvan türlerinden elde edilmelidir. Çünkü enzim işaretli üçüncü antikorun direkt olarak immobilize antikora bağlanmasının önlenmesi gerekir. Her iki şekilde de enzim ürünün konsantrasyonu, standart veya test antijeninin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

3- Antikor Ölçme Yöntemleri (Dolaylı ELISA)

Yarışmasız ELISA'nın diğer bir tipi de, antikor konsantrasyonunu ölçen dolaylı metoddur. Burada immobilize olmuş antijen ve enzim işaretli ikinci bir antikor kullanılır. Bu metod çeşitli antijenlere karşı ortaya çıkan antikorların ölçülmesinde kullanılmaktadır (45).

2.6. FEIA-CAP SİSTEM

Rinit, ekzema, astma alevlenmesi olabilen atopik allerjiye neden olan allerjenler in vitro allerji testleri ile olduğu gibi in vivo olarak temel klinik hikaye ile ayrımı yapılabilir. Cilt test spesifik allerjenleri ayrımı için in vivo olarak geniş capta kullanılır. Birçok hastada sistemler ve cilt testleri sonuçları arasında sıkı bir korelasyon vardır (22).

IgE antikoru 1967 yılında keşfedildi ve RAST (Radioallergosorbent test) Wide ve arkadaşları tarafından aynı yıllarda tanımlandı. Bu serumda allergen spesifik IgE aranması için ilk in vitro çalışmadır. Bu testin çeşitli modifikasyonları geliştirilmiştir. Son zamanlarda yeni in vitro test Pharmacia CAP sistem, serumda total ve allerjene spesifik IgE konsantrasyonlarının tayini için piyasaya çıkarıldı. Gerek ELISA gerekse FEIA-CAP sistemi kısmen otomatizedir ve birkaç saat içinde sonuçları verebilir (22,31).

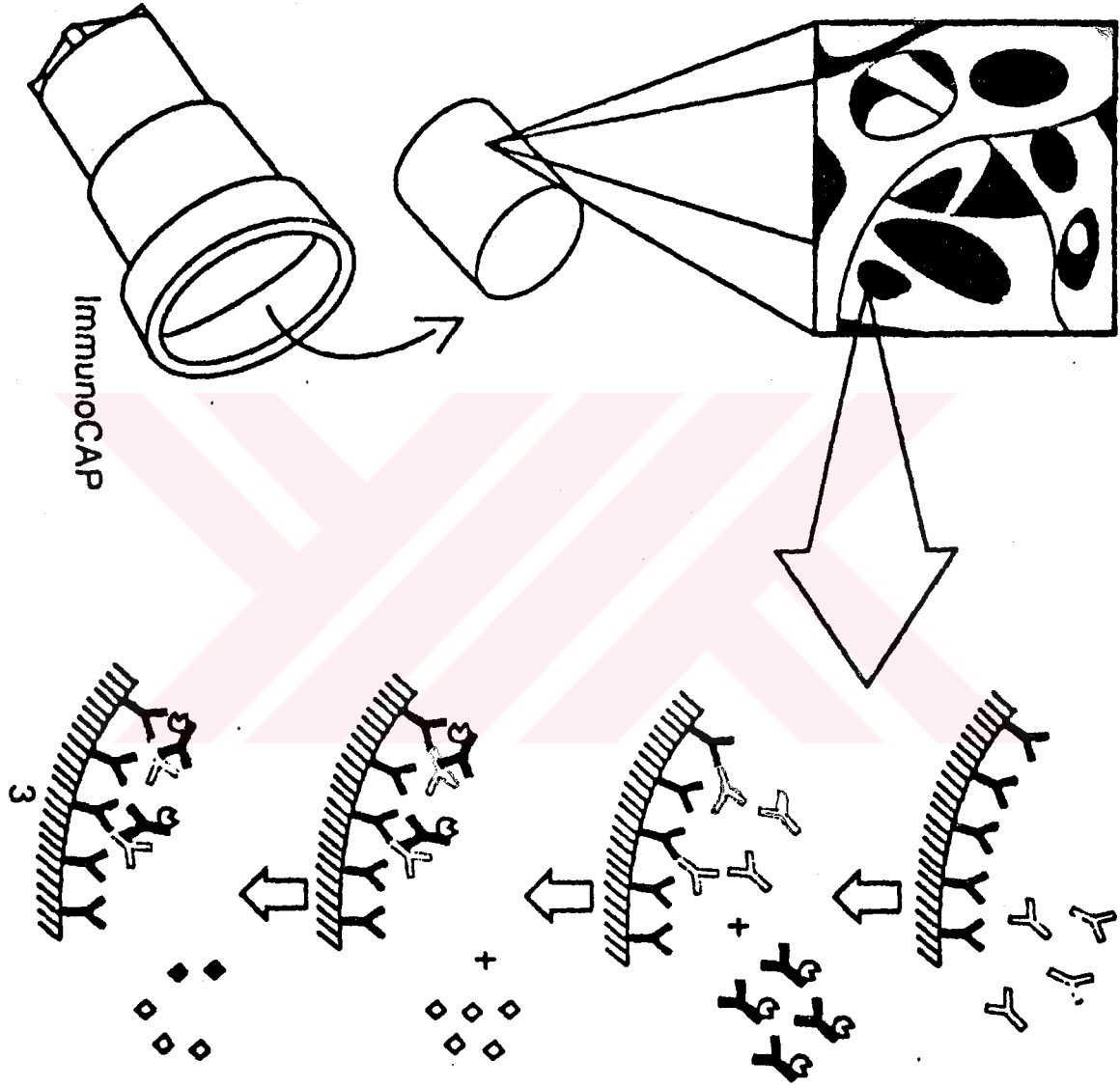
Pharmacia CAP sistemde kullanılan yeni tip solid fazın içeriği kapalı bir kapsül içinde siyanojen bromid (CNBr)- gözenekli aktive hidrofilik polimer (selüloz) taşıyıcısı olan immüno CAP'tir. Bu sistemin iki avantajı vardır. Birincisi daha önce kullanılan kağıt diskten daha fazla protein bağlayabilir. İkincisi solid faz daha uygun kinetik reaksiyon sağlar. Böylece, serumdaki spesifik IgE miktarının çok küçük kısmını bile solid faza yüksek kapasitede bağlayabilir. IgE arasındaki reaksiyon ve allerjenlerin bağlanması oldukça hızlı bir şekilde oluşur. 20 dakikadan daha kısa bir sürede dengeye ulaşır ve diğer immünglobulin sınıfları ile cross reaktivite minimaldir (22,31).

2.6.1. FEIA-CAP Sisteminin Mekanizması:

Anti-IgE, hasta serum örneğinde total IgE ile immüno CAP'ta kovalent olarak tepkime verirler. Sonra yıkanır, IgE'ye karşı enzim işaretli antikorlar, komplekse ilave edilir. Sonra inkübasyona bırakılır. Bağlanmayan anti-IgE enzim yıkanarak uzaklaştırılır ve bağlı kompleks development (banyo) solüsyonu ile inkübasyona bırakılır. Sonra stop (durdurma) etkileşimi eluetin flöresansı fluoro count 96'da ölçülür. Flöresans serum örneğindeki IgE'nin konsantrasyonu ile doğru orantılıdır (Şekil-2).

2.6.2. Allerjene Spesifik IgE'nin RAST (Radioallergosorbent test) ile Ölçümü

Bu test ligandın anti-IgE antikoru ile işaretlenmiş olduğu radioimmünoassay yönteminde antijen spesifik IgE ölçer. Allerjen, selüloz diske kovalent olarak bağlanır. RAST'ta allerjen diske non kovalent olarak bağlanıp, işlemlerdeki aşamalar standart radioimmünoassay ile aynıdır. Daha fazla miktarda antijenin disk üzerinde bulunması test serumu içindeki küçük miktardaki IgE'nin bağlanması için yüksek oranda bir sensitiviteye olanak tanır. RAST FEIA-CAP sistem RAST'ın modifiye olmuş şeklidir. Solid fazı immünoCAP'tır. Normal RAST'ta anti-IgE radioaktif madde ile işaretlenip RAST FEIA-CAP sistemde ise bu flöresans madde ile yapılır. RAST, allerjik teşhis için ayrıca kliniksel teşhiste de desteklenen geniş kullanıma sahiptir. RAST allerjik aktivitenin ölçülmesi için hem kalitatif, hem de kantitatif invitro tekniktir (22).



Şek.2 FEIA-CAP Sisteminin Mekanizması:

3. GEREK VE YÖNTEM

Bu çalışma 1994-1995 yılları arasında C.U.Tıp Fakültesi Dahiliye İmmünoloji-Göğüs Hastalıkları polikliniğinde izlenen 123 bronşial astma ve 53 sağlıklı erişkin bireyi kapsamaktadır.

123 bronşial allerjik astmanın 47'si erkek, 76'sı kadın olup en küçüğü 13 en büyüğü 65 yaşındadır. Yaş ortalaması 35,22 olarak saptanmıştır.

Kontrol grubunu polikliniğe gelen bronşial allerjik astması olmayan ve ailesinde atopi olmayan bronşit ve sık solunum yolu hastalığı gecirmeyen, parazit büküsü olmayan 53 sağlıklı birey oluşturmaktadır. Bunların 28'i erkek, 25'i kadındır. En küçüğü 20, en büyüğü 68 yaşında olup yaş ortalaması 37,66 olarak bulunmuştur.

Hasta ve kontrol grubunda total IgE antikorları mikro-ELISA ve FEIA-CAP (Flouroenzym Immunoassay) sistem ile ölçülerek iki metod karşılaştırıldı. Spesifik IgE, RAST (RadioAllergoSorban Test) FEIA-CAP sistem ile ölçülerek mikst spesifik allerjenler kalitatif olarak saptandı. Ayrıca phadiatop da FEIA-CAP sistem ile çalışılarak solunum allerjenleri kalitatif olarak saptandı. Bu çalışmalar invitro olarak yapıldı.

Kontrol ve hasta grubundan alınan kanlar santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve tüplere konularak 55⁰C'lik deepfreez'de saklandı. Çalışma günleri deepfreez'den alınan serumlar oda ısısında çözündürüldükten sonra vorteksle karıştırılarak çalışmaya başlandı.

Total IgE Düzeyinin ELISA Yöntemi ile Ölçümü:

Serum total IgE konsantrasyonu mikro-ELISA kiti kullanarak ölçüldü (Kallestad, Sanofi Diagnostics Pasteur).

Deneyin Yapılışı:

1. Mikro-ELISA plağının kuyucuklarına ilk kuyucuk (blank) haric standartlardan toplam 7 adet çift hasta ve kontrol serumlarından birer örnek alınarak 20'er µl kondu.

2. İlk kuyucuk (blank) haric elisa plağının bütün kuyucuklarına 100 µl monoklonal solusyon (anti-IgE) ilave edildi.

3. Elisa plağının üstü kapatılarak 37°C'lik etüvde 60 dakika inkübe edildi.

4. Bu süre sonunda semiotomatik ELISA yıkayıcısında Kallestad Allergy Wash solusyonu ile iki kez yıkandı ve plak ters çevrilip kurutma kağıdı üzerinde çarpılarak fazla sıvı uzaklaştırıldı.

5. Bütün kuyucuklara (blank haric) çok kanallı bir otomatik pipet vasıtasıyla 100 µl enzim-konjugat (alkalen fosfataz bağlı anti-IgE) kondu.

6. Plağın üzeri kapatılarak 37°C'de 30 dakika inkübe edildi.

7. Bu inkübasyon arasında substrat solusyonu hazırlandı.

Substrat Solusyonunun Hazırlanması :

14 mg'lık iki substrat tableti (para nitrofenil fosfat) 16 ml substrat dilüent (%10.5 dietanol amin+%0,02 magnezyum clorid: pH: 9.8) içinde eritilerek hazırlandı.

8. Inkübasyondan sonra tekrar yıkama işlemi yapıldı. Kurutma kağıdı üzerinde ters çevrilerek çarpıldı.

9. Bütün kuyucuklara 100 µl substrat solusyonu kondu.

10. Plağın üzeri kapatılarak oda ısısında ve karanlıkta 30 dakika inkübe edildi.

11. Bu süre sonunda bütün kuyucuklara 10 µl reaksiyon durdurma solüsyonu (IM tribasik fosfat, pH-12) ilave edildi.

12. Plak düz bir zemin üzerinde 1-2 dakika hafifçe çalkalandı.

13. Elisa okuyucusunda (EAR 340, Austria) 405 nm dalga boyunda blank'e karşı okuma yapıldı.

14. Standartların konsantrasyonuna karşı okunan optik dansite değerleri kullanılarak çizilen grafikten hasta ve kontrollerin total IgE düzeyleri hesaplandı.

Total IgE Seviyesinin CAP System FEIA ile Ölçülmesi:

Serum total IgE konsantrasyonu kantitatif olarak ölçülmesi için Pharmacia firmasından temin edilen CAP system IgE FEIA (Flouorenzymimmunoassay) ile invitro olarak çalışıldı. Bu metod da kullanılan gerekli cihaz ve ayraçların içeriği şunlardır:

Total IgE'nin Ayraçları:

a. IgE immuno CAP

- Enzym-Anti-IgE

- β-Galactosidase (antiserum raised in rabbit/mause monoclonal 5,1 ml).

- Development solition 6 ml (4-methylumbelliferly-β-D-Galactoside)

- Stop solition (50 ml)

- IgE standartları (0.8 ml).

Konsantrasyonları : 2; 10; 50; 200; 1000; 2000 kU/l

- Washing solition : Wash A, 8.6 ml; Washing solition (FEIA-CAP sistem) additive

Wash C 40 ml; Washing solition concentrate

Cihazlar;

- Assay microplates (A plate 96 kuyu)
- Readin microplates (R plate 96 kuyu)
- ImmunoCAP Dispenser
- ImmunoCAP Carrier Rack
- micropipet (50 µl)
- Assay washer 96: Immuno CAP'leri yıkayan cihaz
- Positioning Guide 96 (PG96): Immuno CAP rack taşıyıcısı ve Uzerinde deneyin kurulduğu cihaz.
- Flouro Count FC96: Eluetin floresansını ölçen alet.

Yıkama Solüsyonunun Hazırlanması

İki set halinde olup 96'lık mikropleytlere yıkıyor. Wash A solüsyonu 8.6 ml ile wash C solüsyonu 40 ml karıştırılıp 500 ml'ye tamamlanır. Wash kabına bu karışım, rinse kabına da distile su konulur.

Deneyin Yapılışı :

1. PG96 cihazındaki racka 2 tane A mikropleyt yerleştirilir. Rack'in sağ tarafındaki mikropleyte total IgE'nin immuno CAP'leri dispenser ile bütün kuyucuklara kondu.

2. Rack'in solundaki A mikropleytine artan konsantrasyonda (2-2000 kU/l) toplam 6 adet standart solüsyonlardan çift olarak ilk sıradaki kuyucuklara 50 µl pipetlendi. Bunları takip eden her kuyucuğa da birer adet hasta serumu 50 µl konuldu.

3. Çoklu CAP dispenseri ile immuno CAP'ler standartlara ve hasta serumlarının üzerine transfer edildi.

4. PG96'nin Uzerindeki rack alınarak Assay Washer 96 yıkama cihazında pleytler (pre wash konumunda) yıkandı.

5. Pre-wash bitince ortada olan pleyt'deki immüno CAP'ler rack'daki sol pleyte CAP dispenseri ile transfer edildi ve 30 dakika oda ısısında ağız kapatılarak inkübasyona bırakıldı.

6. Inkübasyondan sonra bos pleyin bütün kuyucuklarına 50 µl enzim anti-IgE pipetlendi ve Assay Washer da pleytler (serum wash konumunda) yıkandı.

7. Yıkama bitince immüno CAP'lar enzim anti-IgE Uzerine dispenser ile aktarılarak pleytin Uzeri kapatıldı ve 2.5 saat oda ısısında inkübe edildi.

8. Inkübasyondan sonra yine yıkama yapıldı.

(Tracer conjugate wash konumunda)

9. Yıkama bitince en sol pleyte Development solusyonundan bütün kuyucuklara 50 µl pipetlendi.

10. CAP'ler bu solusyonun Uzerine transfer edilerek 10 dakika inkübasyona bırakıldı.

11. Inkübasyon bitince okuma (R) pleytini rack'a yerlestirip CAP'ler en soldan en sagdaki R pleytine transfer edildi (Elute konumu).

12. Elute konumundayken Assay Washer 96 cihazı bütün kuyucuklara 400 µl stop solusyonu pipetledi.

13. R mikropleytinde elde edilen eluetler Flouoro Count FC96 cihazında 2 dakika içerisinde okunarak eluetin flöresansı ölçüldü.

14. Okunan sonuçlar bilgisayara aktarıldı.

15. Bilgisayarda hesaplamalar standartların göre yapılarak, total IgE'nin parabol eğrisi çizdirildi. Grafikten hasta ve kontrollerin total IgE düzeyleri bulundu.

16. Sonuclar kantitatif olarak elde edildi.

17. 100 kU/l'ye kadar değerler normal kabul edildi.

Phadiatop'un FEIA-CAP Sistem ile Ölçülmesi :

Serumda phadiatopu kalitatif belirlemek için Pharmacia firmasından elde edilen FEIA-CAP metodu kullanıldı. Phadiatop allerjenlere özgül IgE düzeyini ölçen multi RAST testtir (Radio allergosorbent test).

Phadiatop FEIA-CAP Sisteminin Ayıraçları:

- Reference immuno CAP (16 adet R CAP)
 - Reference serum (1 ml)
- Sample Immuno CAP (16 adet S CAP)
- Positive Control (human) 0.5 ml
- Negative Control (human) 0.5 ml
- Enzym-Anti-IgE 5.2 ml (antiserum raised in rabbit)
- Development solition (6 ml)
- Stop solution 50 ml
- Wash solition

Phadiatop: Pharmacia differential atopy test.

Deneyin Yapılışı:

Total IgE seviyesinin FEIA-CAP sistem ile ölçülmesinde yapılan işlemlerin aynısıdır. Sadece 1 ve 2 no'lu sıradaki bu testin standart solüsyonları ve immuno CAP'ları farklıdır. İlk sıradaki kuyucuklara reference serum, pozitif kontrol ve negatif kontrol çift olarak 50 µl pipetlendi. Reference serum üzerine 2 tane reference (R) immuno CAP diğerine de sample (S) immuno CAP konuldu. Phadiatopun standartların konsantrasyonuna göre eğri çizdirilemeden hesaplamalar yapıldı. Sonuç kalitatif olarak elde edildi.

**Spesifik IgE (RAST: Radioallergosorbent testi) Düzeyinin
FEIA-CAP Sistem ile Ölçülmesi:**

Spesifik IgE'nin Ayıraçları:

IgE Standartları,

Konsantrasyonu; 0.35; 0.7; 3.5; 17.5; 50; 1000 KU/1.

Standartlar için immüno CAP: a-IgE

Hasta serumu için allergen immüno CAP'ler: fx3; hx2; mx1; tx7.

Deneyin Yapılışı:

Total IgE seviyesinin FEIA-CAP sistem ile ölçülmesinde yapılan işlemlerin aynısıdır. Phadiatopun ölçülmesinde de olduğu gibi sadece 1 ve 2 no'lu sıradaki bu testin solüsyonları ve immüno CAP'leri farklıdır. Total IgE'deki (FEIA-CAP sistem) gibi standartların konsantrasyonlarına göre grafik çizdirilerek hesaplamalar yapıldı. Sonuç kalitatif olarak belirlendi.

Allergen immünoCAP'lar:

fx3=f₄ f₇/Besin miksti

hx2=h₂ d₁ d₂/ Ev tozu miksti

mx1=m₁ m₂ m₃ m₆/ Kuf ve mantar miksti

tx7=t₉ t₁₂ t₁₆ t₁₈/ Polenler

f₄:Bugday

f₇:Yulaf

h₂:Hollister-stier labs

d₁:House dust mite

d₂:House dust mite

m₁:Penicillium notatum

m₂:Cladasporium herbarum

m₃:Aspergillus fumigatus

m₆:Alternaria alternata

t₉:Zeytin

t₁₂:söğüt

t₁₆:Beyaz çam

t₁₈:Okaliptus

4. BULGULAR

Bu çalışma C.U. Tıp Fakültesi Dahiliye İmmünoloji ve Göğüs Hastalıkları polikliniğinde izlenen 123 erişkin bronşial astmalı hasta grubu ile 53 sağlıklı erişkin kontrol grubunu kapsamaktadır. Olguların laboratuvar bulguları Tablo VI ve VII'de gösterilmiştir.

Allerjik astmalı olguların 76'sı (%61,79) kadın, 47'si (%38,21) erkek hasta olup en küçüğü 13, en büyüğü 65 yaşındadır ve yaş ortalaması $35,22 \pm 1.087$ 'dir. Kontrol grubunu polikliniğe gelen enfeksiyonu, paraziti ve ailesinde atopi öyküsü olmayan, bronşit ve sık solunum yolu hastalığı geçirmeyen yaşları 20 ile 68 arasında değişen 53 sağlıklı erişkin birey oluşturmaktadır Tablo (VIII).

Tablo-VIII : Olguların Dağılımı.

	Sayı	Yaş Dağılımı (Yıl)	Yaş Ortalaması	Erkek (%)	Kadın (%)
Bronşiyal Astma	123	13-65	$35,22 \pm 1.087$	47 %38,21	76 %61.79
Kontrol	53	20-68	$37,66 \pm 1,586$	28 %52,83	25 %47,17

Astmalı hastaların ve kontrol grubundakilerin serum total IgE düzeyi FEIA-CAP sistemi ve ELISA yöntemi ile kantitatif tayin edildi. Total IgE değerleri bronşial astmalılarda FEIA-CAP yöntemi ile ölçüldüğünde 2 kU/l ile 2000 kU/l arasında değişmekte olup (ortalama \pm SD) $493,68 \pm 47,624$ kU/l, kontrol grubunun IgE değeri $221,126 \pm 61,966$ kU/l olarak bulundu. Kullandığımız FEIA-CAP sisteminin total IgE'nin normal değerleri 2-100 kU/l olarak belirtilmişti.

ELISA yönteminde ise total IgE düzeyi astmalı olgularda ortalaması $347,146 \pm 28,503$ IU/ml kontrollerde ise ortalama $165,396 \pm 34,372$ IU/ml olarak saptandı. IgE değeri bronşial astmalılarda 5-1000 IU/ml kontrollerde ise 2-1000 IU/ml arasında

değişmekte idi. Kullandığımız ELISA kitinin total IgE'nin normal değerleri 0.5-266 IU/ml olarak belirtildi. Bu değerler baz olarak alındığında 123 olgunun FEIA-CAP sistemi ile 92'sinde (%74.79), 53 kontrolün 20'sinde (%37,73) total IgE değerleri yüksek bulunmuştur. ELISA ile çalışıldığında ise 123 olgunun 52'sinde (%42,27) kontrollerin 7'sinde de (%13.20) total IgE değerleri yüksek bulunmuştur. Hasta ve kontrol grubunun ortalama IgE değerleri 2 metot arasında student-t testi uygulanarak yapılan istatistikte fark anlamlı bulunmuştur (FEIA-CAP: $0.001 < P < 0.01$, ELISA; $P < 0.001$) (Tablo-IX).

Tablo-IX : Olguların Total IgE Düzeyleri

	Bronşial Astma	Kontrol
FEIA-CAP Total IgE (KU/1)	493,68±47,624 (2-2000) ($P < 0.01$)	221,126±61,966 (2-2000)
ELISA Total IgE (IU/ml)	347,146±28,503 (5-1000) $P < 0.001$	165,396±34,372 (2-1000)

Total IgE düzeyleri arasında ayrı ayrı yapılan korelasyon analizinde FEIA-CAP ve ELISA'nın hasta grubu arasında ($r:0.775$), $P < 0.01$ kontrol grubu arasında ise ($r:0.892$), $P < 0.01$ anlamlı bir korelasyon saptanmıştır.

Phadiatop FEIA-CAP sistemle çalışılan sonuçlar kalitatif olarak elde edildi. Phadiatop 123 bronşial astmalı olguların 55'i

(%44,71) pozitifleri Kontrollerin hepsinde negatif saptandı. Antiserum spesifik IgE.RAST.FEIA-CAP ile çalışılmış olup sonuçlar kalitatif olarak saptandı (Tablo X). Spesifik IgE mikstleri; fx3; hx2; tx7; (besin allerjisi; ev tozu; küf ve mantar; polenler) 123 bronşial astmalıların 73'ünde (%59.34) (mikstın en az biri pozitif olmak üzere), 53 kontrolün 5'inde (%9.43) ise pozitif bulunmuştur.

Tablo-X : Bronşial Astmalı Olgularda FEIA-CAP Sistemi ile Yapılan Allerjene Spesifik IgE Sonuçları.

Allerjen Adı	n	%
Ev tozu	57	37.25
Besin	19	12.41
Polen	22	14.37
Küf ve Mantar	6	3.92

Astmalı olgularda total IgE düzeylerinin ELISA ve FEIA-CAP sistemi ile sensitivite (duyarlılık) ve spesifiteleri (özgülük) aşağıdaki formülle hesaplanmaktadır.

$$\text{Sensitivite} = \frac{\text{Gerçek Pozitifler}}{\text{Gerçek Pozitifler} + \text{Yalancı Negatifler}} \times 100$$

$$\text{Spesifite} = \frac{\text{Gerçek Negatifler}}{\text{Gerçek Negatifler} + \text{Yalancı Pozitifler}} \times 100$$

Tablo-XI : Total IgE Düzeylerinin Her İki Metoddaki Sensitiviteleri ve Spesifiteleri.

Metodlar	Sensitivite %	Spesifite %
FEIA-CAP	74.8	62.26
ELISA	42.27	86.79

Tablo-VI : Bronşial Astmalı Olguların Laboratuvar Bulguları.

No	Adı Soyadı	Cins	Yaş (yıl)	Ailede Uyku	Evde Hayvan	FEIA-CAP T.IgE kU/l	ELISA T.IgE IU/ml	RAST FEIA-CAP Allerjene Spesifik IgE				FEIA-CAP Phadiatop
								Besin	Ev tozu	Küf ve mantar	Polen	
1	MY	E	35	+	2	634	330	-	+	-	-	+
2	HA	K	27	-	-	5.64	10	-	+	-	-	-
3	HY	K	20	+	-	239	230	-	+	-	-	+
4	KS	K	29	+	2	695	1000	-	+	-	-	+
5	AK	K	24	+	-	1727	220	-	+	-	-	+
6	ET	E	41	-	-	196	260	-	+	-	-	+
7	SY	K	21	-	-	26	25	-	+	-	-	-
8	ZT	K	21	+	1	106	110	-	-	-	-	-
9	İÜ	E	48	+	-	375	230	-	-	-	-	-
10	SC	K	39	-	-	417	580	-	+	-	+	+
11	ET	K	41	-	-	85	50	-	-	-	-	-
12	HS	K	30	-	-	374	170	-	-	-	-	-
13	EC	K	30	+	-	480	82	-	-	-	-	-
14	YA	K	38	+	-	57	45	-	-	-	-	-
15	RY	K	45	-	-	450	330	-	-	-	-	+
16	VG	K	35	+	-	326	380	-	+	-	-	+
17	SS	K	40	-	-	104	62	-	-	-	-	-
18	EY	K	21	+	-	419	430	-	+	-	-	+
19	SY	K	45	+	-	149	220	-	+	-	-	-
20	HS	K	50	-	-	840	1000	-	+	-	-	+
21	İS	E	38	-	-	27	41	-	+	+	-	-
22	BA	K	40	-	-	155	180	+	+	-	+	+
23	FE	E	30	-	-	105	170	-	-	-	-	-
24	GK	K	35	-	-	379	250	+	-	-	+	-
25	SC	K	21	-	-	452	310	-	+	-	-	+
26	FK	K	31	+	-	20.1	25	-	+	-	-	-
27	RC	K	15	+	-	449	240	-	+	-	-	-

28	EA	K	18	+	-	1485	430	-	+	-	-	-
29	FA	E	18	-	-	1013	580	+	+	-	-	+
30	SK	E	41	-	-	42.5	50	-	-	-	-	-
31	GS	K	32	+	-	186	190	-	+	-	-	-
32	GC	K	47	-	-	12.5	10	-	+	-	-	-
33	IY	E	50	-	-	2000	930	-	+	-	-	+
34	HO	E	41	+	-	1088	640	-	-	-	-	-
35	HK	E	32	+	2	318	260	+	+	+	+	+
36	MU	K	36	+	-	950	560	+	+	-	+	+
37	SS	K	48	-	-	2	5	-	-	-	-	-
38	MC	E	20	-	1	1019	580	+	+	+	+	+
39	HY	K	30	+	2	588	170	-	+	-	-	+
40	YU	E	40	-	-	233	220	-	-	-	-	-
41	MI	K	35	+	-	906	400	-	-	-	+	-
42	KC	E	31	+	-	245	150	+	-	-	+	-
43	BB	E	35	-	-	2000	1000	-	+	-	+	+
44	NA	E	58	-	-	66.8	86	-	-	-	-	-
45	MS	E	42	-	-	30.3	62	-	-	-	-	-
46	HY	K	29	-	-	137	220	-	-	-	-	-
47	VB	E	41	-	-	238	110	-	-	-	-	-
48	RU	E	63	+	-	215	105	+	-	-	-	-
49	FK	K	45	+	-	346	170	+	+	-	+	+
50	FD	K	39	-	-	897	560	-	+	-	-	+
51	MK	K	45	-	2	88.2	41	-	-	-	+	-
52	RR	E	35	+	-	564	290	+	+	-	+	+
53	DJ	E	36	-	-	68.8	30	-	-	-	-	-
54	II	E	44	-	-	275	220	-	-	-	-	-
55	TK	K	18	+	-	729	340	-	+	-	-	+
56	NC	K	17	+	-	2000	920	+	+	-	+	+
57	HC	E	30	-	-	1441	580	+	+	-	-	+

58	HB	E	17	+	-	1079	430	-	+	-	-	+
59	HA	E	49	+	-	2000	700	-	+	-	-	+
60	AF	K	20	-	-	146	135	+	-	-	-	-
61	PS	K	18	-	-	1517	910	-	-	-	-	-
62	RO	E	39	-	-	386	310	-	-	-	-	-
63	MR	E	35	+	-	748	910	-	-	-	-	-
64	SK	K	57	-	-	99.7	80	-	-	-	-	-
65	FG	K	40	-	-	81.5	86	-	-	-	-	-
66	AB	K	20	+	-	21	40	-	-	-	-	-
67	SS	E	19	+	-	65.8	170	-	+	-	-	+
68	AP	E	30	+	-	288	260	+	-	-	+	-
69	BH	E	34	+	-	849	1000	-	+	-	-	+
70	EA	K	37	-	-	649	640	-	+	-	-	+
71	FD	K	40	-	-	743	800	-	-	-	+	+
72	MP	K	36	-	-	2000	1000	-	+	-	-	-
73	ST	K	25	-	-	356	160	-	-	-	-	-
74	MM	E	44	+	-	329	195	-	-	-	-	-
75	ZD	K	63	-	-	95.9	110	-	+	-	-	-
76	MC	E	48	-	-	786	470	-	+	-	+	+
77	SX	K	50	+	-	162	90	-	-	-	-	-
78	MP	E	55	+	1	27	25	-	-	-	-	-
79	VK	E	42	+	-	2000	1000	+	+	+	-	+
80	HD	K	36	-	-	28.4	25	-	-	+	-	-
81	FD	K	30	-	-	319	680	-	-	-	-	-
82	AS	E	16	+	-	174	250	-	+	-	-	+
83	OD	E	65	+	-	291	250	-	-	-	-	-
84	AK	K	56	-	-	169	130	-	-	-	-	-
85	MT	E	41	-	-	186	80	-	-	-	-	-
86	HO	E	23	-	-	529	560	-	+	-	-	+
87	HS	K	55	-	1	144	170	-	-	-	-	-

88	LU	K	22	+	-	59.5	50	-	-	-	-	-
89	BY	K	47	+	-	20.2	33	-	-	-	-	-
90	AK	E	40	-	-	31.2	33	-	-	-	-	-
91	AK	E	24	+	-	746	310	-	-	+	-	-
92	ES	K	30	+	-	48.1	41	-	-	-	-	-
93	MD	K	44	+	-	140	110	-	+	-	-	+
94	NB	K	36	-	-	1096	900	-	+	-	+	+
95	ES	K	41	+	-	962	760	-	+	-	-	+
96	YY	K	22	-	-	142	190	-	+	-	-	+
97	GK	K	49	-	-	86	170	-	+	-	-	+
98	MK	E	25	+	-	586	740	-	-	-	-	+
99	US	K	13	+	-	966	800	-	+	-	-	+
100	HA	E	36	+	-	462	640	-	+	-	-	+
101	SS	E	29	+	-	2000	1000	-	+	-	-	+
102	GR	K	47	+	-	251	170	-	+	-	-	+
103	MY	E	55	+	-	741	740	-	+	-	-	+
104	NU	K	41	+	-	23.2	41	-	-	-	-	-
105	DB	K	43	-	-	63.3	92	-	-	-	-	-
106	AD	K	18	+	-	40	82	-	-	-	-	-
107	SB	K	45	-	-	1138	800	+	-	-	+	+
108	SD	K	10	-	-	121	84	-	-	-	-	-
109	WU	K	27	+	-	150	125	-	-	-	+	+
110	EG	K	22	-	-	194	150	-	-	-	-	-
111	SE	K	18	+	-	29.4	45	-	-	-	-	-
112	NK	K	29	-	-	48.6	62	-	-	-	-	-
113	AC	E	27	+	-	893	1000	+	+	-	+	+
114	SD	K	28	+	-	478	900	-	-	-	-	-
115	HO	K	25	-	-	127	110	-	-	-	-	-
116	AS	E	43	-	-	242	330	-	-	-	-	-
117	NY	E	47	+	-	392	270	-	+	-	-	+

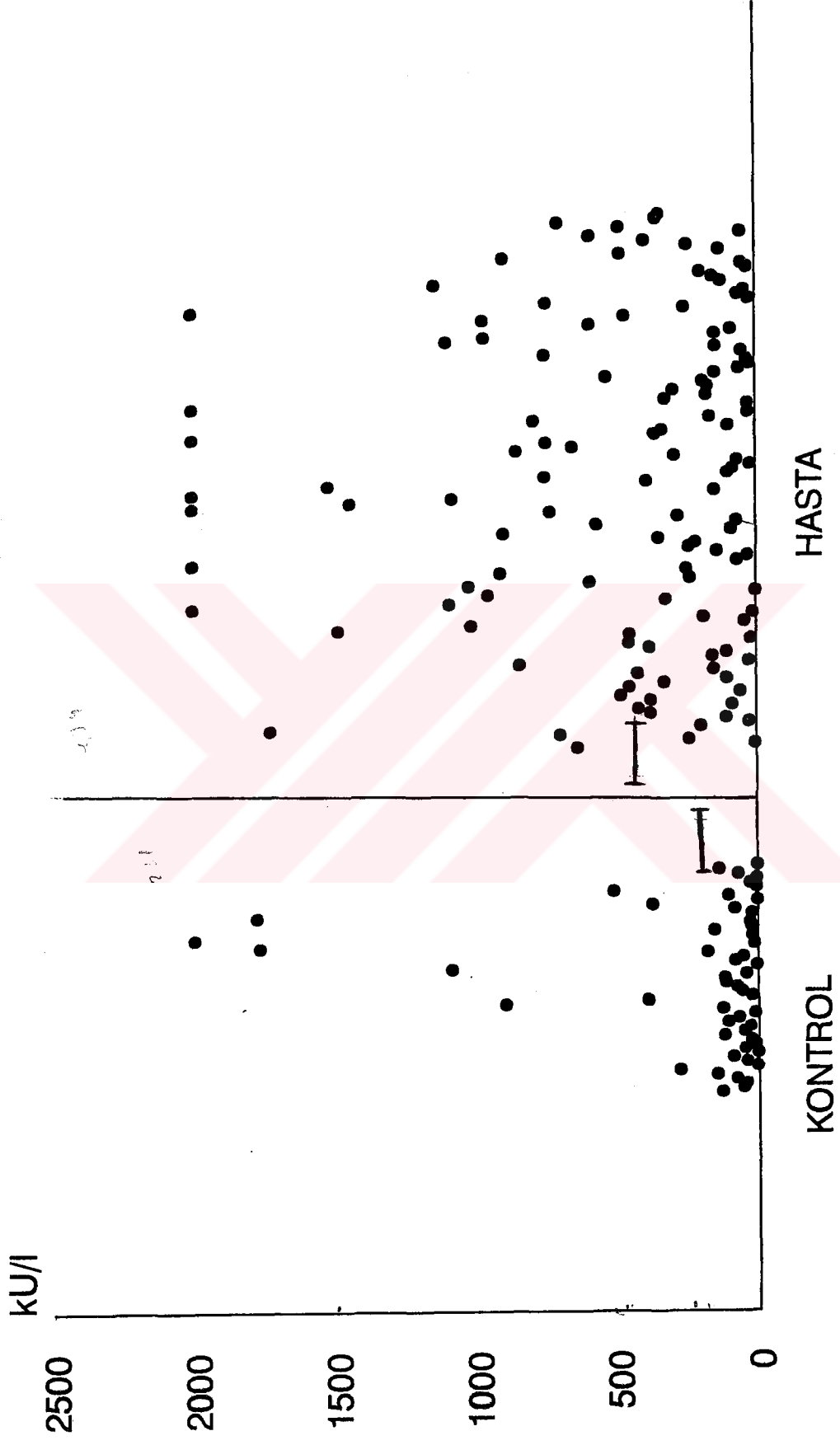
118	FG	K	27	+	-	585	430	-	+	-	-	+
119	AC	K	40	-	-	51.5	76	-	-	-	-	-
120	AA	K	38	+	-	482	980	-	+	-	-	+
121	ED	K	25	+	-	699	640	+	-	-	+	+
122	YY	K	32	+	-	351	940	-	+	-	-	+
123	HP	E	34	+	-	340	300	+	-	-	+	+



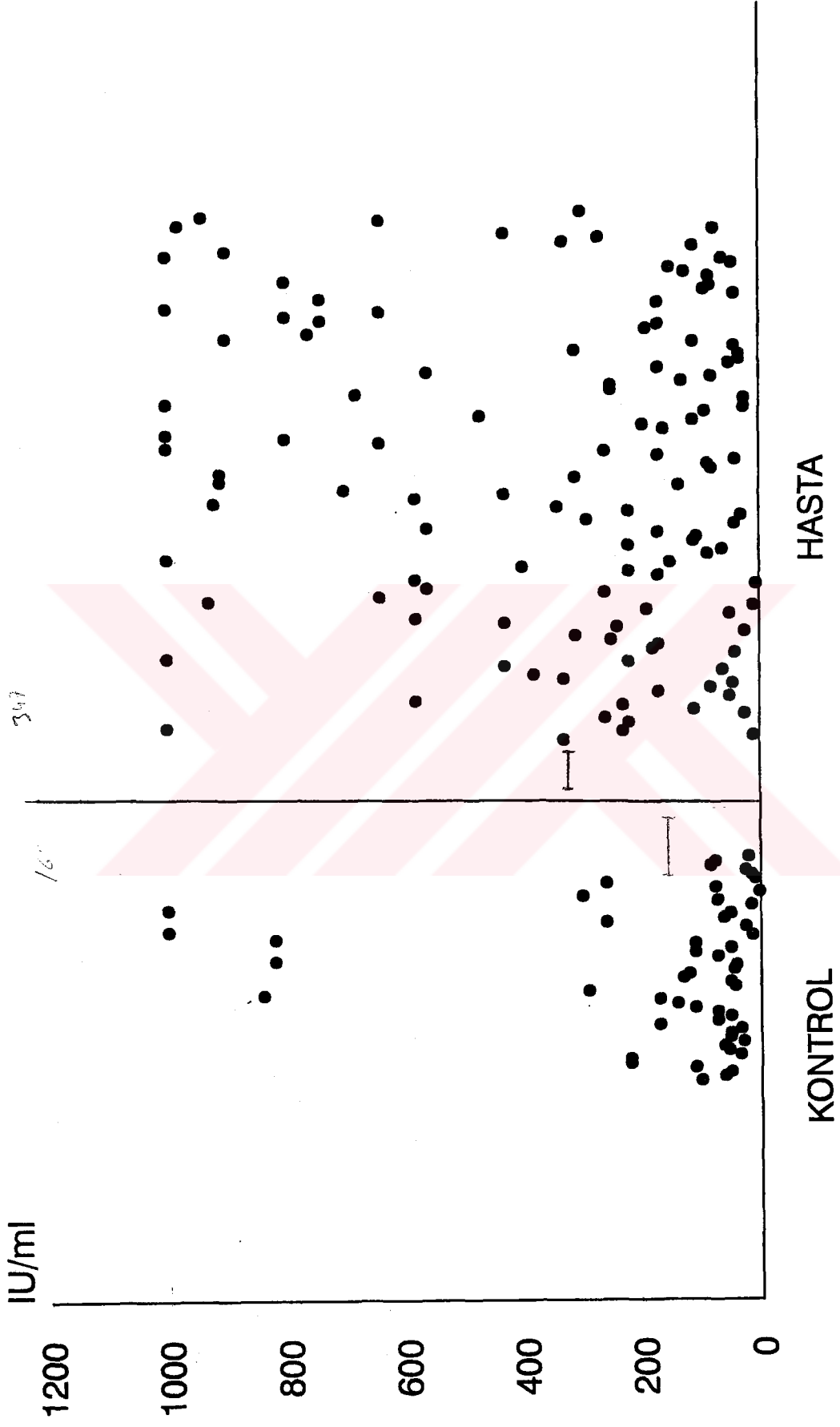
Tablo-VII : Kontrol Grubunun Laboratuvar Bulguları.

No	Adı Soyadı	Cins	Yas (yıl)	Ailede Uyku	Evide Hayvan	FEIA CAP T.IgE kU/l	ELISA T.IgE IU/ml	RAST FEIA-CAP Allerjene Spesifik IgE				FEIA CAP Phadiatop
								Besin	Ev tozu	Mantar ve Kuf	Polen	
1	ZA	E	35	-	-	129	100	-	-	-	-	-
2	AA	E	55	-	-	54.6	60	-	+	-	-	-
3	AK	K	39	-	-	44.3	50	-	-	-	-	-
4	NT	E	30	-	-	78	110	-	-	-	-	-
5	MK	E	45	-	-	147	220	-	+	-	-	-
6	MB	K	20	+	-	279	220	-	-	-	-	-
7	MA	E	30	-	-	5.42	35	-	-	-	-	-
8	AS	K	30	+	-	40.5	54	-	-	-	-	-
9	IC	E	42	-	-	88.8	62	-	-	-	-	-
10	AD	K	35	-	-	2	30	-	-	-	+	-
11	AH	E	33	-	-	46.7	52	-	-	-	-	-
12	NE	E	42	-	1	9.99	50	-	-	-	-	-
13	GA	E	50	-	-	25.3	33	-	-	-	-	-
14	RD	K	29	-	-	120	170	+	-	-	+	-
15	CG	E	25	-	-	51.8	72	-	-	-	-	-
16	MR	E	27	+	-	29.9	50	-	-	-	-	-
17	AA	E	63	2	-	108	72	-	-	-	-	-
18	HT	K	32	-	-	69.4	110	-	+	-	-	-
19	CC	E	33	-	1	13.6	140	-	-	-	-	-
20	AU	E	47	-	-	126	170	-	-	-	-	-
21	HD	E	32	-	1	897	840	-	-	-	-	-
22	ZK	K	52	-	-	391	290	-	-	-	-	-
23	EH	E	29	-	-	23.4	43	-	-	-	-	-
24	ZS	K	24	-	-	56	50	-	-	-	-	-
25	YE	E	44	-	-	74	130	-	-	-	-	-
26	CS	E	51	-	1	114	120	-	-	-	-	-

27	ZB	K	35	-	-	117	45	-	-	-	-	-
28	KC	E	41	+	-	42.2	41	-	-	-	-	-
29	MG	E	39	-	-	1087	820	-	-	-	-	-
30	SG	K	44	-	1	6.13	72	-	-	-	-	-
31	HS	K	68	-	-	80.6	110	-	-	-	-	-
32	AD	E	55	-	-	52.1	50	-	-	-	-	-
33	GC	K	23	-	-	178	110	-	-	-	-	-
34	SG	K	30	+	-	1769	820	-	-	-	-	-
35	AC	E	57	-	-	13.5	14	-	-	-	-	-
36	HT	K	30	-	-	2000	1000	-	-	-	-	-
37	YG	E	38	-	-	21.6	25	-	-	-	-	-
38	SC	K	34	-	1	154	260	-	-	-	-	-
39	FU	K	56	-	-	24	62	-	-	-	-	-
40	RG	E	31	-	-	27.8	50	-	-	-	-	-
41	HU	K	44	-	-	1780	1000	-	-	-	-	-
42	FD	E	40	-	-	22.2	15	-	-	-	-	-
43	AC	K	30	-	-	82.7	72	-	-	-	-	-
44	MB	K	45	-	-	373	300	-	-	-	-	-
45	NT	E	53	-	-	2.48	2	-	-	-	-	-
46	EY	K	22	+	-	104	76	-	-	-	-	-
47	AS	E	24	-	-	511	260	-	-	-	-	-
48	SB	K	23	-	1	5.51	9	-	-	-	-	-
49	EE	K	20	-	-	27.8	15	-	-	-	-	-
50	EE	K	42	-	-	5.03	25	-	-	-	-	-
51	KK	E	44	-	-	69.3	84	-	-	-	-	-
52	CD	K	27	-	-	137	76	-	-	-	-	-
53	SA	K	27	-	-	2	20	-	-	-	-	-



Şek 3 FEIA total IgE'nin kontrol ve hasta gruplarına göre dağılımı



Şek. 4 ELISA total IgE'nin kontrol ve hasta gruplarına göre dağılımı

5.TARTIŞMA VE SONUC

Hastanemiz Göğüs Hastalıkları Kliniğinde, klinik ve laboratuvar bulgularına ilaveten deri testleri desteği sonucunda bronşial astma tanısı almış 123 olgu araştırılmıştır. Total IgE düzeyinin FEIA-CAP sistemi ile %74.8 oranında, ELISA yöntemi ile %42.3 oranında artmış olduğu saptanmıştır. Aradaki fark %32.5 olup duyarlılık ve özgüllük hesabı yapıldığında (14) FEIA-CAP sisteminin ELISA'ya oranla total IgE ölçümü açısından daha duyarlı (sensitiv) fakat daha az özgül (spesifik) olduğu (sensitivite sırası ile %75 ve %42; spesifite sırası ile %62 ve %87) görülmüştür.

Çalışmamızda FEIA-CAP yönteminin hastalıkları yakalama açısından daha duyarlı olduğu kanısına varabiliriz. Serum IgE düzeyinin solunum yolu allerjilerinde ve bronşial astmalı hastalarda yüksek olduğu bilinmektedir. Serum IgE seviyeleri sadece ekstrensik astmalılarda değil aynı zamanda non-allerjik astmalılarda yükselebilir (9).

Ailede atopi öyküsü olup kendisinde herhangi bir şikayeti olmayan 5 sağlıklı kontrol olgusunun üçünde (3/5) total IgE yüksekliği saptanmıştır. Bunların ikisinde (2/5) total IgE değeri hem FEIA-CAP hem de ELISA ile; birinde sadece FEIA-CAP ile yüksek bulunmuştur. Tüm kontrol olguları değerlendirildiğinde FEIA-CAP ile %35, ELISA ile %13 oranında total IgE artışı gözlenmiştir. Her ne kadar kontrol ve astma olguları kıyaslandığında her iki yöntemle de total IgE düzeylerinin hasta grubunda anlamlı olarak arttığı gözlenmekte ise de; kontrol grubunda saptanan pozitiflikler total IgE ölçümünün bronşial astım için yeterince spesifik olmadığını ortaya koymaktadır. Hasta ve kontrol grubunda FEIA-CAP yöntemi ile elde edilen artmış IgE oranının ELISA sonuçlarından daha yüksek oranda olması FEIA-CAP yönteminin daha duyarlı olduğunu göstermektedir. Ancak sağlıklı kişilerde artmış IgE'yi daha yüksek oranda gösterdiği için FEIA-CAP'ın daha az spesifik olduğu da gösterilmektedir.

Phadiatop, allerjenlere özgül IgE düzeyini ölçen, MultiRAST (multiantijen radioallergosorbent test) testtir (20). FEIA-CAP sistemi ile Phadiatop çalışmamızda bronşial astmalı olguların serumunda %44.71 oranında pozitif bulunmuş olup, kontrol grubunun hepsinde negatif sonuç tespit edilmiştir.

Daha önce yapılan bir çalışmada allerjene spesifik IgE pozitifliği FEIA-CAP sistem ve ELISA (Alastat) yöntemleri ile incelenerek karşılaştırılmıştır. Van Houte tarafından yapılan bu çalışmada allerjene spesifik IgE'ler açısından FEIA-CAP sisteminin ELISA'ya oranla daha duyarlı fakat daha az özgül olduğu gözlenmiştir (22). Bu bulgu bizim sonuçlarımızla uygundur. Ancak bu çalışmada total IgE düzeyleri karşılaştırılmamıştır. Bizim çalışmamızda total IgE düzeyleri ELISA ve FEIA-CAP sistemi ile karşılaştırılmış olup, allerjene spesifik IgE pozitifliği sadece FEIA-CAP sistemi ile araştırılmıştır. ELISA yöntemi ile spesifik allerjenlerin incelenmesi yapılamamıştır.

Bronşial astmalı olgularımızın spesifik allerjenler içinde en fazla ev tozuna karşı reaksiyon olduğu gözlemlendi. Bu oran %37.2'dir. Van Houte'un çalışmasında da birinci derecede ev tozu akarına karşı spesifik IgE yüksekliği görülmüştür. Bu da bizim sonuçlarımızla uyumludur. İkinci sırada polenlerin rol oynadığı gözlenmiş olup, %14.37 oranındadır. Van Houte'nin çalışmasında da benzer sonuçlar alınmıştır. Tahıla karşı allerjene spesifik IgE ölçümü %12.41 bulunmuş olup bu da üçüncü sırayı oluşturmaktadır. Çalışmamızda mantara karşı spesifik allerjen oranı ise %3.92 bulunmuş olup, Houte'nin çalışmasında bu oran %6'dır (22). FEIA-CAP sistemle yaptığımız allerjene spesifik IgE için elde ettiğimiz bulgularımız önceki yapılan çalışma ile oldukça iyi uyum göstermektedir. Çalışmamızın farklı popülasyonlarda yapılmış olmasına karşılık sonuçların aynı yöntemle benzer değerlerde olması, olgularımızda etnik ve genetik farklılıkların önemli ölçüde etkin olmadığını göstermektedir. FEIA-CAP sistemi hastalık yakalamada duyarlılığı yüksek bulgusu olarak değerlendirilebilir.

Ailede atopi öyküsü olan 5 sağlıklı kontrolün hepsinde araştırdığımız allerjene spesifik IgE antikorları negatif bulunmuş, ayrıca bunların tümünde Phadiatop da negatif bulunmuştur. Ancak aile öyküsü olmayan 5 farklı olguda en az bir allerjene karşı olmak üzere allerjene spesifik IgE pozitifliği gözlenmiştir. Aile öyküsü ile paralel gitmeyen bu bulguların ışığında atopi olmasına rağmen kişinin semptom vermemesi veya semptomların farkına varmaması söz konusu olabilir diye düşünmekteyiz. Aile öyküsü olsun veya olmasın spesifik allerjen ölçümü atopi saptamada bir rehber olarak alınmalıdır.

6. ÖZET

Astma, alt hava yollarının hiperreaktivitesine bağlı olarak meydana gelen reversibl spazmodik ve genellikle episodik olan inflamatuvar bir hastalığıdır. Bronşial astma tanısında klinik bulgulara ilaveten total IgE, antijene spesifik IgE (RAST), phadiatop kullanılmaktadır.

Çalışmamız, 123 bronşial astmalı erişkin hasta (76 kadın, 47 erkek, yaş ortalaması 35,22'dir) ile 53 sağlıklı birey (28 kadın, 25 erkek yaş ortalaması 37.66) kapsamaktadır. Bronşial astmalı hastalarda ve kontrol grubunda serum total IgE düzeyleri FEIA-CAP ve mikro-ELISA yöntemi ile ölçülerek karşılaştırıldı. Olguların FEIA-CAP sistemi ile total IgE seviyesi %74,8 ve ELISA yöntemi ile de %42,3 oranında yüksek bulundu. İstatistiksel değerlendirmede bu iki yöntem arasında anlamlı bir korelasyon saptandı ($r=0.77$ $p<0.001$). Phadiatop FEIA-CAP sistemi ile aynı gruplarda çalışılmış olup bronşial astmalı olguların 55'inde (%44,7) pozitif; kontrollerin hepsinde negatif olarak saptanmıştır.

Allerjene spesifik IgE RAST FEIA-CAP sistemi ile çalışılıp sonuçlar kalitatif olarak saptandı. Spesifik IgE antikoru ları gıda, küf ve mantar, ev tozu ve polenler olmak üzere çeşitli allerjen karışımları için araştırıldı. 123 bronşial astmalı olgunun 73'u (%59.3) ile 53 kontrol grubunun 5'inde (%9.4) en az bir allerjen karışımına karşı antikor pozitif bulunmuştur. Bu verilerin ışığında allerjik popülasyonu non allerjik popülasyondan ayırmada en duyarlı yöntemin deri testleri olmasına karşın deri testlerinin yapılmadığı durumlarda ve özellikle tarama testleri olarak, FEIA-CAP'ın kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

SUMMARY

Asthma is a chronic obstructive disease of the lower airways. It is characterized by episodic exacerbations of at least partially reversible airflow limitation along with bronchial hyperreactivity and airway inflammation.

In this particular study, serum IgE levels were studied by ELISA and FEIA-CAP system in 123 patients with asthma bronchiale (76 female, 47 male; mean age: 35.22) and 53 healthy controls (28 female, 25 male, mean age: 37.66). Mean IgE levels for ELISA (347.146 IU/ml \pm 28,503 SE) and for FEIA-CAP system (493,68 kU/l \pm 47.624 SE) were significantly higher than those of the control group (165,396 IU/ml \pm 34,372: 221, 126 kU/l \pm 61,966), ($P < 0.001$ and $0.01 < P < 0.01$). Phadiatop was also measured by FEIA-CAP system as a multiallergen RAST test in the same patient and control groups. Phadiatop was positive in 44,7% of the patients with in Bronsial asthma, however no positive results was found in the control group. FEIA-CAP (RAST) system for the qualitative measurement of allergen specific IgE antibodies in both 2 groups were also studied. Allergen specific IgE antibody was found 59.3% in the patient group and 9.4% of control group.

According to our results, total IgE measurement by FEIA-CAP system is more sensitive than ELISA (74.8%, 42.2%) FEIA-CAP system can also be used as a screening test for allergen specific IgE in order to detcet atopy.

KAYNAKLAR

1. Al-Doory Y. Airborne fungi, In: Y Al-Dorry JF Domson (eds), Mouldy Allergy p.27 Lea and Febiger, 1984, Philadelphia.
2. Artvinli M. Egzersizle olusan Astma, Bronş Astması Ed.: Baris IY. Ankara, 1991, 78-80.
3. Bampton JLM, Causton TE, Kyl MV and Hazleman BL: Measurement of rheumatoid factors by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and comparison with other methods. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 1995, 44: 13-19.
4. Bazeral M, Orger H.A., Hamburger R.N. et al: IgE levels in normal infants and mothers and inheritance hypothesis *J.Immunol* 1971, 107: 794.
5. Bilgehan H; *Temel Mikrobiyoloji ve Bağısıklık Bilimi*; Baris yayınları, 1992, izmir. 472-474.
6. Bousquet J, Chanez P, Laccoste JY, et al: Eosinophilic inflammation in asthma, *N Engl J.Med* 1990, 323: 1033.
7. Boyum A; Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. *Scand J.Clin Lab Invest.* 21 (suppl) 1968, 97: 77.
8. Bush RK: *Aerobiology of pollen and fungal allergens*, *J Aller Clin Immunol* 1989, 84: 1120.
9. Chanez P. Bousquet J. and Michel F.B. Asthma patogenezi icinde *Odyssey the Glaxo Journal of innovation in health care volume: I issue: 1 october 1994, Montpallier.*

10. Clark Brian R, Engvall Eva: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (Elisa) : Theoretical and practical Aspects. Enzyme. Immunoassay içinde Edward T. Maggio, 1980, CRC Press.
11. Clutterbuck EJ, Hirst EMA, Sanderson CJ: Human interleukin 5 (IL-5) regulates the production of eosinophils in human bone marrow cultures: Comparison and interaction with IL-1, IL-3, IL-6 and GM-CSF. Blood 1989, 73: 1504.
12. Cavdar T. Bronş astmasında patogenezi, Bronş astması. Ed: Barış IY, Ankara, 1991, 8-24.
13. Dahl R, Venge P, Olsson I: Variations of blood eosinophils and eosinophilic cationic protein in serum in patients with bronchial asthma; studies during inhalation test, Aller 1978, 33: 211.
14. Donald R. Hoffman, ph.D. Comparison of methods of performing the radioallergosorbent test: Phadebas, fad-al-nalebuff and Hoffman protocols. Ann Aller, 1980, 45, 343-346.
15. Dor PJ, Ackerman SJ, Gleich GJ: Charcot-Leyden crystal protein and eosinophil granule major basic protein in sputum of patients with respiratory disease. Am Respir Dis 1984, 130: 1072.
16. Durhan SR, Kay AB: Eosinophils, bronchial hyperreactivity and late-phase asthmatic reactions. Clin Aller 1985, 15: 411.
17. Erkan ML, Allerjik Astma, Bronş Astması (Ed: Barış IY) Ankara, 1991, 50-62.
18. Frigas E, Loegering DA, Gleich GS: Cytotoxic effects of the guinea pig eosinophil major basic protein on tracheal epithelium. Lab. Invest 1980, 42: 35.

19. GÜneşer S; Atopik ve nonatopik sık solunum yolu hastalığı geçiren çocukların hücresel ve humoral immün sistemlerinin incelenmesi, Yan Dal Uzmanlık Tezi Adana, 1994.
20. GÜneşer S, Savas N, Altıntaş D, Akmanlar N; Atopi testinde tarama testi "phadiatop" Ç.U.Tıp Fak Der. Adana, 1993, 18: 285-288.
21. Horn BR, Robin ED, Theodore J, Von Kessel A: Total eosinophil counts in the management of bronchial asthma. N Engl J.Med 1975, 292: 1152.
22. Houte AJ; Bartels PCM; Comparative Evaluation of the Pharmacia CAP system and DPC Alastat System for in vitro Detection of Allergen specific IgE with the skin Prick Test; Eur J.Clin Chem.Clin.Biochem 1992, 30:(2): 101-105.
23. Iversen M, Korsgaard J, Hallas T, et al: Mite Allergy and exposure to storage mites and house dust mites in farmers, Clin Exp Immunol 1990, 20: 211.
24. Kroegel C, Wirchow JC, Krtzik C, Matthys H: Cytokines, platelet activating factor and eosinophils in asthma, Respir Med 1992, 86: 375.
25. Lakin J.D., Cahill R.A.: Generalized urticaria to cyclophosphamide: Type I hyper sensitivity to an immunosuppressive agent. J.Aller Clin Immunol 1981, 67; 450-5.
26. Lee BW, Geha RS, Leung DYM. IgE response and Regulation in Allergic Diseases. The Ped Clin North Am 1988, 35 (5): 953-61.
27. Muftuoğlu E. İmmünoloji; Saray Medikal Yayıncılık İzmir, 1993, 279-317.

28. Özesmi M, Mesleksel Astma, Brons Astması Ed: Barış İY. Ankara, 1991, 63-70.
29. Özkaragöz K, : Allerji Hastalıkları. Ankara, 1978,
30. Patterson R.: Allergic Diseases Diagnosis and Management Third Edition, J.B. Lippincott Company. Philadelphia, 1985, 253-303.
31. Pastorello EA, Incorvaia C, Pravettoni V, Marelli A, Farioli L, Ghezzi M, Clinical evaluation of CAP system and RAST in the measurement of specific IgE; Aller. 1992, 47: 463-466.
32. Platts-Mills TA, Chapman MD: Dust mites: Immunology, allergic disease and environmental control. J Aller Clin Immunol 1988, 82: 841.
33. Roitt I.M Essential Immunology, sixth edition Blacwell scientific publications. Oxford, 1988, 135, 152, 107-109.
34. Salman N. Mast Hücreleri, Temel Allerji, IV Ulusal Allerji Kongresi ve Temel Allerji Kursu Kitabı, Ulusal Allerji ve Klinik Immunoloji Derneği, Ankara, 1991, 1419.
35. Sampson HA, Backley RH, Metcalfe DD: Food allergy. JAMA 1987, 258: 2886.
36. Smith JM. Epidemiology and natural history of asthma, allergic rhinitis, and atopic dermatitis. In: Middleton E, Reed CE, Ellis EF et al (eds). Aller: Principles and practice (third ed). The Mosby Co. 1988, 891-9298.
37. Soothill Y.F., Stokes A.R., Turner M.V: Clin. Aller. Predisposing factors and development of reaginic allergy in infancy. 1976, 6: 305.

38. Staley JT, Palmer F, Adams J: Microcolonia fungi: Common inhabitants on desert rock? *Science* 1982, 215: 1093.
39. Stiehm E.R: Immunologic Disorders in infants and children, third edition. W.B Saunders Company. 1989, 171-173, 439-502.
40. Stites D.P., Stobo J.D., Wells J.V.: Basic and Clinical Immunology sixth edition. Appleton and Lange. 1987, 75, 280-282, 435-456.
41. Stites DP.; Terr AI. Basic and Clinical Immunology Seventh Edition. LANGE Medical book. 1980, 367-379 San Francisco.
42. Suerdem M. Astmada Mediyatörler ve Nöropeptidler. Brons Astması (ED: Barış İY) Ankara, 1991, 25-37.
43. Temel Allerji. IV. Ulusal Allerji Kongresi ve Temel Allerji Kursu Kongre Kitabı. Ulusal Allerji ve Klinik İmmünoloji Derneği Ankara, 1991.
44. Varcelli D, and Geha R.J.: The IgE System, *Ann Aller.* 1989, 63; 4-8.
45. Voller A. Bidwell D. Enzyme Linked Immunosorbent Assay. IN: Noel R.R; Friedman H. Fahey J.L. *Manual of Clinical Laboratory Immunology* thidrd Editim Washington-1986, 99-115.
46. Warren B.C. and pearlman D.S.; *Allergic Diseases of infancy, Chidhood and adolescence.* Philadelphia, 1980.
47. Wellby ML., Grove D.L. Bruston D.O., Ford R.M., Forbes I.J: Humoral and cellular immunity in asthma. *J Aller Clin İmmünol.* 1975, 55; 152-163.

OZGECMIS

19.11.1960 yılında Adana'da doğdum. İlk orta ve lise öğrenimimi Adana'da tamamladıktan sonra, 1980 yılında Ç.U.Fen-Ed. Fakültesi Biyoloji Bölümünde öğrenimime başladım. 1984 yılında eğitimimi tamamladıktan sonra aynı yılda Ç.U.Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında Master'e başladım. 1986 yılında aynı Fakültenin Dahiliye İmmünoloji Bilim Dalında Biyolog olarak çalışmaya başlayınca Biyokimyadaki öğrenimimi tez aşamasında yarım bıraktım. 1993 yılında Dahiliye İmmünoloji Bilim Dalında Yüksek Lisansa başladım.