



T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**KRONİK ÜRTİKERLİ HASTALARDA IL-4 R α Q576R
POLİMORFİZM SIKLIĞI**

Dr. Neslihan ERÇETİN
UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Gülçin ESKANDARI

Bu tez, BAP-TFTTB(GE)2004-3 kodlu proje olarak Mersin
Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
desteklenmiştir

MERSİN-2006

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam sırasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım değerli hocam Prof. Uğur Atik'e saygı ve şükranlarımı sunarım. Ayrıca, tezimle ilgili sorunların çözümünde bana yardımcı olup yol gösteren tez danışmanım Doç. Dr. Gülçin Eskandari'ye ilgi, hoşgörü, yakınlık ve yardımları için teşekkür ederim.

Biyokimya eğitiminin sağladığı olanaklardan en iyi şekilde yararlanmam için beni yönlendirip destekleyen Doç. Dr. Lülüfer Tamer, Doç. Dr. Gürbüz Polat, Doç. Dr. Burak Çimen ve Yrd. Doç. Dr. Necati Muşlu'ya, güzel arkadaşlıkları ve yardımları için asistan arkadaşlarıma ve tüm Biyokimya Anabilim Dalı çalışanlarına teşekkür ederim.

Tezim ve çalışma grubunun planlanması sırasında beni yönlendiren Dermatoloji AD öğretim üyesi Doç. Dr. Ümit Türsen'e, çalışma grubunun oluşturulmasındaki yardımları için Dermatoloji AD asistanlarına, istatistiksel analizleri yapmamda yardımcı olan Ar. Gör. Seval Kul'a teşekkür ederim.

Hayatımın her anında olduğu gibi asistanlık eğitimim ve tez çalışmalarım boyunca beni destek, güven ve sevgileri ile yüreklendiren aileme teşekkür ederim.

Eşim Tayfun'a yardımları, sabrı ve sevgisi, kızım Zeynep'e varlığı için teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ÖZET	5
İNGİLİZCE ÖZET	6
1. GİRİŞ VE AMAÇ	7
2. GENEL BİLGİLER	9
2.1. Ürtiker	9
2.1.1. Sınıflama	9
2.1.2. Kronik Ürtiker	10
1.2.1. Etyoloji	11
1.2.2. Patogenez	11
2.1.3. Mast Hücreleri	13
1.3.1. Primer Mediyatörler	15
1.3.2. Sekonder Mediyatörler	16
2.2. Sitokinler	16
2.2.1. Sitokinlerin Yapıları	17
2.2.2. Sitokinlerin Sentezi, Salınmaları ve Kaynak Hücreler	18
2.2.3. Sitokinlerin Genel Özellikleri	19
2.2.4. Sitokin Reseptör Aileleri	19
2.2.4.1 Tip 1 Sitokin Reseptör Ailesi	20
2.2.4.2 Tip 2 Sitokin Reseptör Ailesi	20
2.3. İnterlökin-4	21
2.4. İnterlökin-4 reseptörü	22
2.5. Desloratadin	25
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	26
3.1. Araç ve Gereç	26
3.2. Yöntemler	27
3.2.1. IL-4 Reseptör Geni Q576R Polimorfizmi	27
3.2.1.1. Tam Kandan DNA Eldesi	27

3.2.1.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)	29
3.2.1.3. Melting Curve Analizi	30
3.2.1.4. IL-4 R Geni Q576R Bölge Polimorfizmi PCR Protokolü.....	30
3.2.2. IL-4 Ölçüm Yöntemi	31
İstatistiksel Yöntem	32
4. BULGULAR	33
4.1. Demografik Veriler.....	33
4.2. IL-4 R α Q576R İçin Melting Curve Analiz Grafiği	33
4.3. Genotiplerin Görülme Sıklığı	34
4.4. Hasta ve Kontrol Gruplarında IL-4 Düzeylerinin Karşılaştırılması	34
4.5. Hastalarda Tedavi Öncesi ve Sonrası IL-4 Düzeylerinin Karşılaştırılması	35
4.6. Hastaların Genotiplerinin Semptom Skorlarına Etkisi	35
5. TARTIŞMA.....	37
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	43
7. KAYNAKLAR	44
8. SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	50
9. ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ.....	51
10. TABLOLAR DİZİNİ	52

ÖZET

Ürtikeryal lezyonların 6 haftadan daha uzun sürdüğü ürtiker kronik ürtikerdir. Alerjik hastalıklara sahip bireylerde mutant IL-4 reseptörü α zinciri tespit edilmiştir. Bu mutant zincirde 576'ncı pozisyonda arginin yerine glutamin amino asidi geçmiştir. Bu ise artmış sinyal transdüksiyonuna sahip reseptör oluşumu ile sonuçlanır.

Kronik ürtikerde başlıca tedavi H1 reseptör antagonistlerinin kullanımındır. Desloratadin yeni ve seçici bir H1 reseptör antagonisti olup aynı zamanda IL-4 gibi sitokinlerin üretimini de inhibe etmektedir.

Bu çalışmanın amacı IL-4 reseptörü α Q576R polimorfizminin kronik ürtiker gelişimine yakınlıkla bağlantılı olup olmadığı ve kronik ürtikerli hastalarda IL-4 üretiminin azaltıp azaltmadığını araştırmaktır.

Mersin Üniversitesi dermatoloji polikliniğine başvuran ve ayrıntılı incelemeler sonucunda kronik ürtiker tanısı olan 102 birey hasta grubuna alınmıştır. Kendinde veya ailesinde atopi öyküsü ve bulgusu olmayan 80 sağlıklı birey ise kontrol grubunu oluşturmuştur.

Q576R polimorfizminin dağılımı ve IL-4 düzeyleri bakımından hasta ve kontrol grupları arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı. Kronik ürtiker hastalarında tedavi öncesi ve sonrası bakılan IL-4 düzeylerinde de herhangi bir farklılık bulunamadı.

Sonuç olarak araştırdığımız hasta popülasyonunda IL-4 R α subunitinde oluşan Q576R polimorfizminin kronik ürtiker gelişimine genetik yakınlıkla bağlantısı olmadığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Interlökin-4, IL-4 reseptör α , IL-4 R α Q576R polimorfizmi, desloratadin, kronik ürtiker.

ABSTRACT

The Frequency of IL-4 R α Q576R Polymorphism in Chronic Urticaria Patients

Chronic urticaria is the presence of urticarial lesions for more than 6 weeks. A mutant IL-4 R α chain has been identified in individuals with allergic diseases. In the mutant IL-4 R α chain, glutamine is substituted for arginine at position 576 of the precursor protein. It was suggested that this mutation produces a receptor that shows enhanced signal transduction.

H1-receptor antagonists are the primary treatment in chronic urticaria. Desloratadine is a new, selective, histamine H1-receptor antagonist and also inhibits the generation of cytokines including IL-4.

The aim of the present study was to investigate whether IL-4 R α Q576R polymorphism is associated with susceptibility to the development of chronic urticaria and also the ability of desloratadine to inhibit the generation of interleukin IL-4 in patients with chronic urticaria.

One hundred and two individuals were recruited from the Mersin University Dermatology out-patient clinic with a current physician diagnosis of chronic urticaria. Eighty healthy controls with no personal or family history of atopy were recruited from the same clinic.

No statistically significant differences between the group of patients with chronic urticaria and the controls were found when the genotype distribution of Q576R polymorphism was compared. We also demonstrated that IL-4 concentrations were comparable to healthy controls, without any difference between control and chronic urticaria patients. IL-4 levels before and after desloratadine treatment in the chronic urticaria patients has no differences.

In conclusion, the IL-4 R α Q576R polymorphism does not seem to play an important role in genetic predisposition to chronic urticaria in the population tested.

Key Words: Interleukin-4 (IL-4), IL-4 receptor α (IL-4 R α), IL-4 R α Q576R polymorphism, desloratadin, chronic urticaria

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Çeşitli uyarılara karşı immünolojik ya da nonimmünolojik mekanizmalarla gelişen vasküler bir reaksiyon olan ürtiker, klinik açıdan akut ve kronik olarak ikiye ayrılır¹. Akut ürtiker olgularında iyi bir anamnez çoğunlukla etken ile bağlantı kurulmasını sağlarken, kronik ürtikerli hastalarda yapılan geniş çaplı araştırmalarda spesifik bir neden genellikle bulunamamaktadır.

Kronik ürtiker allerjik ya da otoimmün sebeplere bağlı olarak gelişebilmektedir. Allerjik reaksiyonların gelişiminde, antijenle ilk karşılaşmada vücutta herhangi bir allerjik yanıt gerçekleşmez. Ancak organizma kendini aynı antijenle bir sonraki karşılaşma için hazır hale getirir. Antijenle ikinci kez karşılaşmada spesifik immünglobülin E (IgE) aracılı bir uyarımla mast hücrelerinden mediyatörlerin salınımı gerçekleştirir. Otoimmün mekanizmada ise mast hücrelerinden degranülasyonu başlatıcı sinyaller direk olarak IgE aracılığı ile değil, IgE'nin kendisine ya da yüksek affiniteli reseptörüne (FcεRI) karşı oluşan antikorlar aracılığı ile oluşmaktadır².

İnterlökin-4 (IL-4) aktive T lenfositlerden, mast hücrelerinden ve bazofillerden salınan güçlü bir sitokin olup, B ve T lenfosit aracılı immün yanıtların düzenlenmesinden sorumludur. Aktive olmamış B ve T lenfositler için büyüme faktörü olarak görev görmektedir. B lenfositlerin, bellek B hücrelere dönüşmesinden ve IgE sentezinin arttırılmasından sorumludur. IL-4 hücre yüzeyinde yer alan FcεRI ekspresyonunu arttırır. Yardımcı T hücrelerinden (Th) alt grup 2 hücrelerinin gelişimi, eozinofillerin inflamasyonun olduğu bölgeye yönlendirilmesi³, immünglobülin G1, immünglobülin G4 ve IgE üretimi, CD23'ün ve major histokompatibilite kompleksi (MHC) Sınıf II moleküllerinin B lenfositlerin yüzeyinde ekspresyonu ve mukus üretiminin arttırılması gibi klinik açıdan önemli çok sayıda biyolojik etkileri vardır^{3,4,5}.

Yapılan çok sayıda çalışmada IL-4 düzeyleri kronik ürtikerli hastalarda yüksek bulunmuştur⁶. Tüm bu etkiler ve kronik ürtikerin oluşum mekanizmaları göz önüne alındığında, IL-4 düzeylerinin kronik ürtikerin hem

etyopatogenezinde, hem de semptomların şiddeti üzerinde etkileri olduğu düşünülebilir.

IL-4 etkilerini hücre yüzeyinde yer alan reseptörüne bağlanarak ortaya koymaktadır. IL-4 reseptöründe oluşan polimorfizmler reseptörün liganda yanıtında farklılıklara neden olmaktadır. IL-4 reseptörünün α subünitinde oluşan Q576R polimorfizmi reseptörün liganda yanıtında bir aşırılığa neden olarak IL-4'ün etkilerini arttırmaktadır.

IL-4 düzeyleri ve reseptör polimorfizmi astım, allerjik rinit gibi allerjik temellere dayanan hastalıklarda çeşitli araştırmacılar tarafından çalışılmıştır. Ancak hem allerjik, hem de otoimmün mekanizmalar ile gelişebilen kronik ürtikerde bu polimorfizmin sıklığı ve hastaların semptomlarının şiddetine olan etkileri üzerine henüz araştırma yapılmamıştır.

Bu çalışmada, kronik ürtikerli hastalarda IL-4 reseptör polimorfizminin sıklığı ve H1 histaminik reseptör blokörü olan Desloratadin'in IL-4 düzeyi üzerine olan etkisi yukarıdaki nedenlerle araştırılmıştır. Polimorfizm sıklığının gösterilmesi ya da tedavi sonrası hastaların semptomları ve IL-4 düzeyleri arasındaki ilişkinin incelenmesinin amacı; toplumda oldukça sık görülen bir hastalık olan kronik ürtikerin tedavisinin ve yönetiminin organizasyonu üzerinde faydalı bilgilere ulaşılmasına katkı sağlayabilmektir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. ÜRTİKER

Ürtiker toplumda oldukça sık görülen ve çok çeşitli klinik durumlarla etkilenen bireyin yaşam kalitesini oldukça azaltan bir hastalıktır. Ürtiker Hipokrat'tan bu yana tanımlanmış olup, hastalığın adı 18.yüzyılda lezyonların latince adı urtica dioica olan ısırgan otuna maruz kalınması sonucu ortaya çıkan yakınlara benzemesi sonucu konulmuştur⁷.

Çok hızlı gelişip, 24 saatten kısa sürede kaybolan ve vücudun farklı bölgelerinde yeniden oluşan kızarıklık, kabarıklık, kaşıntılı lezyonlar ile karakterizedir. Ürtiker plağı terimi genellikle ciltte oluşan kızarıklık ve kabarıklık lezyonları tanımlamak için kullanılan bir terim olup, anjiyoödem bu tanımlamanın dışında tutulur. Ancak aslında ürtiker plakları her iki klinik durumun birlikte bulunması ile ya da zaman zaman anjiyoödem olmaksızın ortaya çıkan lezyonları ifade eden genel bir tanımlamadır^{7,8}. Bu plaklar dermiste oluşan gelip geçici, keskin sınırlı, zaman zaman eritematöz, zaman zaman ise soluk seyreden kaşıntılı şişliklerdir⁸. Anjiyoödem eşlik ettiği lezyonlar daha derin dermal bölgeleri etkiler ve sınırları belirgin değildir. Eritem yerine solukluk ya da normal cilt rengi ile karakterize olup, genellikle kaşıntı yerine ağrı ile seyreder⁸. Bu plaklar boyut olarak birkaç milimetreden zaman zaman bir el büyüklüğüne kadar, sayısal olarak ise birkaç taneden sayılamayacak kadar çok sayıda lezyonun varlığına olmak üzere çok farklı şekillerde olabilir⁷.

2.1.1. Sınıflama

Ürtiker heterojen hastalıklar grubundan olup, genel olarak hastalığın süresi ve klinik özelliklerine bağlı olarak sınıflandırılmaktadır. Klasik olarak akut ve kronik ürtiker olarak iki gruba ayrılabilir. Ürtikeryal semptomların 6 haftadan kısa sürdüğü grup akut, 6 haftadan uzun sürdüğü grup ise kronik ürtiker olarak adlandırılır. Hastalığın süresine bağlı olarak yapılan bu sınıflama ürtikerin tüm çeşitlerinde yapılabilir. Ancak akut ürtiker durumlarında ekzojen bir sebebin sıklıkla bulunabilmesinden ötürü, hastalık süresine göre

yapılan sınıflama sınırlı bir öneme sahiptir⁸. Klinik özellikler ve tetikleyen etkenlere bağlı olarak da bir sınıflama yapılabilmektedir. Bununla birlikte zaman zaman hastalar bu sınıflama içerisinde birden fazla gruba ait özellikler taşıyabilmektedir⁸.

Tablo 1: Ürtikerin klinik sınıflaması⁸.

1. Klasik Ürtiker	a) Akut	b) Kronik
2. Fiziksel ve Kolinerjik Ürtiker		
3. Ürtikeryal Vaskülit		
4. Kontakt Ürtiker		
5. Ürtikeryal Lezyonların Eşlik Etmediği Anjiyoödem		
6. Ürtiker ya da Anjiyoödem Benzeyen Diğer Sendromlar		

Klasik ürtiker terimi fiziksel, kontakt ya da vaskülitik sınıflara girmeyen ürtiker grubunu tanımlamak için kullanılır. Kronik idiyopatik ürtiker olarak adlandırılan hastaların yaklaşık %50'sinin hastalıklarının temelinde otoimmün bir sebep olduğu eskiden beri bilinmektedir⁹. Bundan dolayı eski bir tanımlama olan kronik idiyopatik ürtiker artık yerini klasik kronik ürtikere bırakmıştır. Klasik akut ürtiker özellikle atopik yapılı bireylerde allerjik etkenlere bağlı olarak gelişirken, klasik kronik ürtikerde allerji dışı mekanizmalar da rol oynamaktadır⁸.

2.1.2. Kronik Ürtiker

Ürtiker lokalize küçük plaklardan geniş alanlara yayılmış, anjiyoödem eşlik ettiği, çok sayıda plağın bulunduğu klinik paternlere kadar oldukça farklı görünümde ortaya çıkabilmektedir. Bundan dolayı tanı, tedavi, prognoz ve hastalığın kontrol altına alınabilme aşamalarının daha etkin şekilde yapılabilmesi için ürtiker çeşitlerinin çok daha iyi anlaşılması gerekmektedir. Tekrarlayan ürtikeryal semptomların klasik olarak 6 haftadan uzun sürmesi kronik ürtiker olarak adlandırılır⁹. Kronik ürtiker terimi hastaların etiyolojilerine yönelik bir fikir oluşturmamaktadır.

Plazmanın küçük kan damarlarından çevredeki bağ dokuya çıkması sonucu oluşan, cildin kısa süreli şişlikleri ile karakterizedir⁹. Özellikle geceleri

yakınmalarda artma olur¹⁰. Dermisteki bu yüzeysel şişliklere ürtiker plağı adı verilmektedir. Bu plaklar genellikle kaşıntılı olup, ilk oluştuğı anda ödemin fazla olmasından ötürü merkezi bir solukluk gözlenmektedir. Ancak saatler içerisinde ödemin çözülmesi ile birlikte pembe yüzeysel plaklar haline dönerler. Eğer şiddetli kaşıntıdan dolayı cilt hasarlanmadıysa, oluşan bu plaklar herhangi bir iz bırakmadan ortadan kaybolur⁹.

Dermiste, subkütanöz ya da submüköz dokular gibi daha derin yerleşimli bölgelerde oluşan şişlikler ise anjiyoödem adını alır. Bu tip lezyonlar kaşıntılı olmaktan çok ağrılı olup, yüzeysel plaklara kıyasla ortadan kaybolmaları daha uzun zaman alır¹¹. Anjiyoödem eşlik etmediğı plakların ortadan kaybolma süresi 4-36 saat sürerken, anjiyoödem varlığında bu süre 72 saatten daha uzun sürmektedir¹¹. Hem ürtiker plağı hem de anjiyoödem tek tek oluşabileceğı gibi bir arada da bulunabilir. Hastaların yaklaşık olarak %40'ında dudaklar, dil, farinks, yanaklar, periorbital alan ve ekstremitelerde anjiyoödem gözlenmektedir¹². Anjiyoödem bağı genital bölgede şişmeler gözlenmektedir¹².

Oluşan bu yakınmalar genellikle remisyon ve relaps atakları ile seyreder. Genel olarak hastalarda bir yıl içerisinde spontan olarak remisyon gözlenirse de, bazı hastalarda yakınmalar periyodik olarak yıllar boyu sürebilmektedir¹³.

2.1.2.1 Etyoloji

Bazı hastalarda spesifik bir etyolojik etkenin bulunabilmesi zaman zaman mümkün olabilirken, genel olarak birçok vakada etyolojik faktörler özellikle kronik grupta yer alan ürtiker hastalarında ortaya konamamaktadır.

2.1.2.2 Patogenez

Kronik ürtikerde oluşan lezyonlar oldukça tipik olup, merkezde pembemsi-kırmızı bir bölge ve bunun etrafını saran kırmızı bir halka ile karakterizedir¹⁴.

Mast hücreleri ürtikerdeki başlıca efektör hücreler⁷ olup, vücutta oldukça çok sayıda ve yaygın şekilde bulunur. Fenotiplerine ve stimülasyona verdikleri yanıtlar ile kendi içlerinde farklılıklar gösterir. Bu da anaflaksi ve ürtikerde oluşan yanıtların farklılığını açıklayabilir. Mast hücreleri,

yüzeylelerinde FcεRI eksprese edebilmektedirler ve IgE'ye bağımlı gelişen allerjik reaksiyonların oluşumunda görev alır. Ciltte yer alan mast hücrelerinin sayısı hakkında oldukça farklı görüşler bulunmaktadır. Bununla birlikte sayıdan bağımsız olarak kronik ürtikerli hastaların mast hücrelerinin uyarılma sonrası degranülasyona oldukça yatkın oldukları kabul edilmektedir⁷.

İki ya da daha fazla sayıda birbirine bağımlı IgE antikorunun mast hücresi yüzeyinde yer alan yüksek affiniteli reseptörlerine bağlanması ile birlikte degranülasyon sinyali verilmiş olur. Bu hem kalsiyum, hem de enerji gerektiren bir takım basamaklar zincirinin oluşması ve depolanmış olan granüllerin hücre membranına füzyonu ile sonuçlanır. Füzyon işlemi tamamlandıktan sonra granül içerikleri hücre dışı alana boşaltılır. Bu işlem degranülasyon olarak adlandırılır⁷.

Klasik Tip I hipersensitivite reaksiyonları reseptöre bağımlı IgE antikoruna allerjenin bağlanmasını takiben başlar, ancak anti-IgE antikor ve anti-IgE reseptör antikor gibi IgE dışı birtakım immünolojik degranülasyon uyarıcıları da IgE reseptörleri üzerinden etki gösterebilmektedir^{7,9}.

Opiatlar, kompleman 5a, anafatoksin, kök hücre faktörü ve nöropeptit gibi bazı nonimmünolojik uyarıcılar FcεRI reseptöründen bağımsız olarak spesifik reseptörlerine bağlanarak da degranülasyonu başlatabilir^{7,9}.

Ürtiker kapillerler ve venüllerde lokal permeabilite artışı sonucu oluşur. Histamin gibi önceden sentezlenerek, depolanan mediyatörler ve yeni sentezlenen mediyatörlerin aktiflenmiş mast hücrelerinden salınımı sonucu gerçekleşir⁸. Farklı dokularda yer alan mast hücrelerinde IL-4, 5, 6, 8 ve 13 gibi birçok sitokin bulunduğunu gösterilmiştir⁷. Tüm bu mediyatörlerin sentez ve sekresyonu yüksek afiniteli FcεRI reseptörlerinin uyarılmasının ardından olur. Uyarım sonrasında salınan histamin ciltte yer alan postkapiller venüllerdeki H1 histaminik reseptörlere bağlanarak vazodilatasyona ve damar permeabilitesinin artmasına neden olur⁶. Bu geçirgenlik artışı albumin, immünglobülinler ve diğer bazı plazma proteinlerinin damar dışına çıkması ile sonuçlanır. Bunun yanı sıra histamin endotelial hücreler üzerinde yer alan adezyon moleküllerinin ekspresyonunu arttırarak, damar dolaşımında yer alan inflamatuvar hücrelerin dolaşımdan ayrılıp ciltte yer alan inflamasyon bölgesine yapışmasına olanak sağlar⁷. Son zamanlarda kanda dolaşan

humoral faktörlerin ürtikerli hastalardaki önemi daha iyi anlaşılmasına başlanmıştır.

Yapılan in vitro çalışmalarda klasik kronik ürtikerli hastaların yaklaşık %30-50'sinde mast hücreleri ve bazofillerden histamin ve diğer mediyatörlerin salınımına neden olan IgG otoantikörlerinin varlığı gösterilmiştir⁷. Bu otoantikörlerin büyük bir kısmı FcεRI reseptörlerinin ekstrasellüler bölgede yer alan α subunitine bağlanarak etki gösterir.

Hastaların yaklaşık %10 kadarında ise IgE antikorunun Fc kısmına karşı gelişen fonksiyonel antikörlerin de varlığı gösterilmiştir. Otoimmün ürtikerdeki olayları başlatıcı faktörler bilinmemektedir. Bununla birlikte sıcaklık ve basınç gibi etkenlerin otoantikörlerin ekstraselülasyonuna, bunun ardından mast hücrelerinin degranülasyonuna ve ürtikeryal yanıtların oluşumuna neden olabilecekleri düşünülmektedir⁷.

2.1.3 Mast Hücreleri

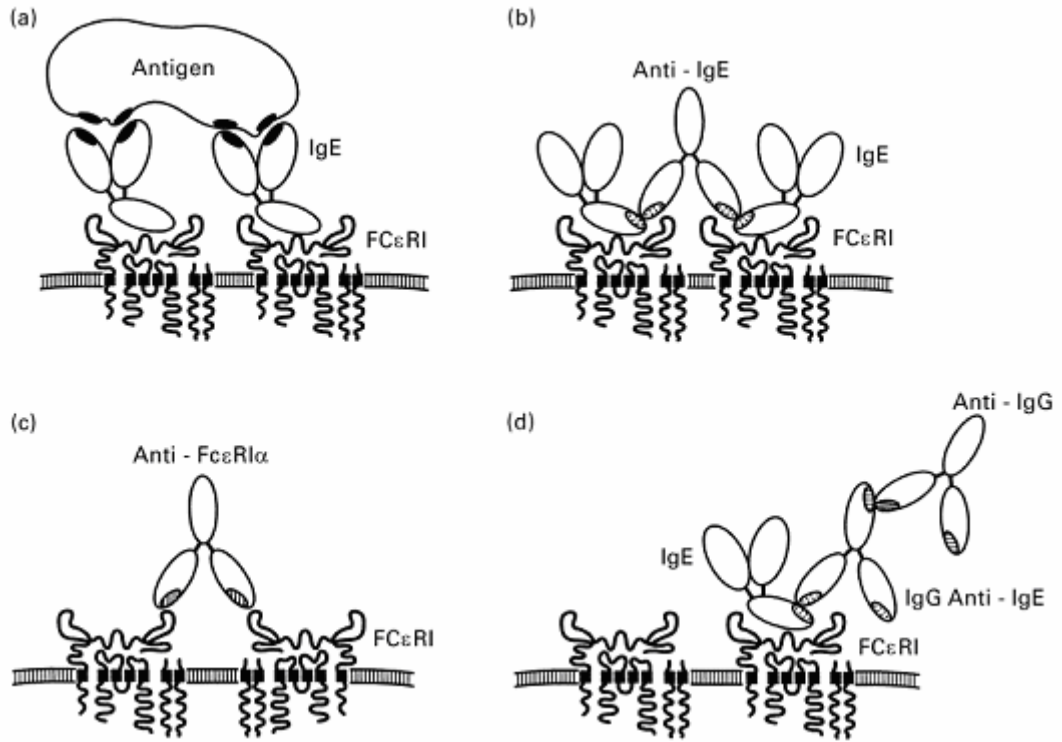
Mast hücreleri kemik iliğinden gelişir ve dokularda geniş şekilde dağılmıştır. Başlıca subepitelyal bölge, subepitelyal kan damarlarının çevresi ve sinirlerin etrafında bulunur.

Sitoplazmaları çeşitli biyolojik aktif mediyatörlere sahip membranlı granüller içerir¹⁵. Vücutta bazofiller ile birlikte histamin içeren tek hücre grubunu oluşturmaktadır. Buna ek olarak yine dinlenme durumunda yüksek affiniteli IgE reseptörleri olan FcεRI reseptörlerini eksprese edebilen vücuttaki tek hücredir.

Birçok durumda allerjene maruz kalındığında primer ve en hızlı yanıt yine bu iki hücre grubu tarafından oluşturulur. Bu hücrelerin yüzeyinde yer alan IgE reseptörlerinde çapraz bağlanma gerçekleşir.

Bazofiller dolaşımda yer alan hücreler olup, dokularda normal koşullarda bulunmaz. Ancak uyarım halinde mast hücreleri ve T hücrelerinden salınan sitokinlerin etkisi ile dokulara girişleri söz konusu olur. Tersine mast hücreleri konnektif doku ve mukozal yüzeylerde yer alıp, dolaşımda yer almaz. Farklı dokularda yer alan mast hücreleri morfolojik ve sitogenetik olarak birbirlerinden farklı özellikler gösterebilmektedir. Mast hücreleri normalde dokularda bulunmakla birlikte, inflamasyon gelişimine yanıt olarak sayıları artış gösterir. Bu artışın T hücre bağımlı bir artış olduğu

düşünülmektedir. Dokularda artan mast hücrelerinden degranülasyon olayının gerçekleşmesi mediyatörleri içeren granüllerin membranlarının hücre membranının dış kısmına füzyonunu gerektirir. Bunun sonucunda hücre içinde yer alan bu granüller hücre membranının bir parçası haline gelir. Daha sonra granül içerikleri hızla çözünür ve hücre dışına sekrete edilir. Bu sekresyon sonrasında geriye granül içeriğini kısmen ya da zaman zaman tamamen boşaltmış olan hücreler kalır. Bu olaylar dizisi çoğu zaman iki adet spesifik antijen ile bağlanmış IgE antikorunun, IgE antikoruna ya da IgE reseptörüne karşı oluşan antikorların hücre yüzeyindeki reseptörlere bağlanması sonunda gerçekleşir. İki IgE reseptöründe çapraz bağlanma gerçekleştiği anda reseptörün γ zincirinde sinyal transdüksiyonu oluşur. Bu ise degranülasyon ve yeni mediyatörlerin sentezi ile sonuçlanan kalsiyumun hücre içine doğru akışına neden olur⁷.



Şekil 1. İnsan mast hücresi ve bazofillerinin IgE-FcεRI ağı üzerinden immünolojik aktivasyonunun şematik görünümü¹⁶.

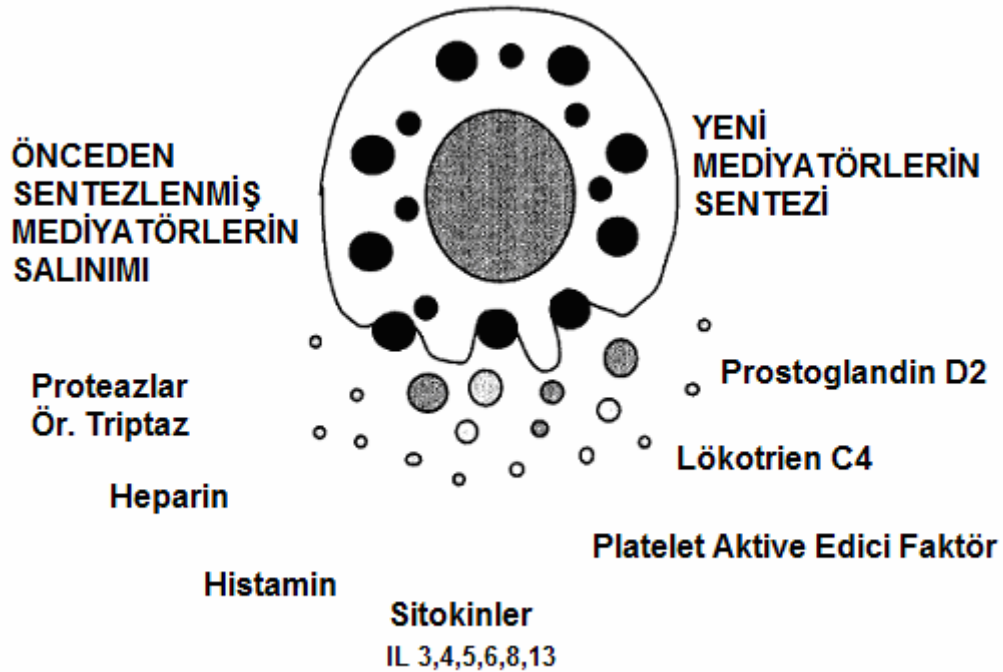
IgE antikorlarının yüksek afiniteli reseptörlerine çapraz bağlanması mast hücreleri ve bazofillerden mediyatörlerin salınımında primer rol oynasa da, degranülasyon gelişiminde tek yol bu değildir. Degranülasyon yukarıda

anlatılan yol dışında fitohemaglütininer, konkovalin A gibi lektiner, reseptörün α subünitine karşı oluşan antikorlar ya da IgE antikoruna karşı oluşan antikorların yine yüksek affiniteli IgE reseptörlerine bağlanması¹⁷ ya da makrofaj kaynaklı sitokinler, kodein, morfin, mellitin gibi ilaçlar, fiziksel uyarılar sonucunda da oluşabilir¹⁵.

Uyarılar ile mast hücrelerinden primer ve sekonder mediyatörlerin hücre dışı alana salınımı gerçekleşir.

2.1.3.1 Primer Mediyatörler

Mast hücrelerinin uyarılmasından sonra mast hücrelerinde yer alan önceden sentezlenip, depolanmış olan primer mediyatörlerin salınımı gerçekleşir. Primer mediyatörlerin en önemlisi olan histamin, artmış vasküler permeabilite, vazodilatasyon, bronkokonstriksiyon, artmış mukus sekresyonu gibi etkilere neden olur. Histamin dışında primer mediyatörler arasında adozin, nötrofil-eozinofil kemotaktik faktör, granül matrisinde yer alan heparin, nötral proteazlar ve kompleman parçalanma ürünleri vardır¹⁵.



Şekil 2. Mast hücrelerinin immünolojik ve nonimmünolojik uyarılar ile oluşan degranülasyonu⁹.

2.1.3.2 Sekonder Mediyatörler

Bunlar lipit mediyatörler ve sitokinlerden oluşurlar.

- a) Lipit mediyatörler fosfolipaz A₂ aktivasyonu ile sentezlenirler. Fosfolipaz A₂ etkisi ile mast hücrelerindeki membran fosfolipitlerinden araşidonik asit serbestleşir. Araşidonik asit lökotrienler ve prostoglandinlerin sentezindeki öncül maddedir. Trombosit aktive edici faktör de fosfolipaz A₂ aktivasyonu ile gelişen bir mediyatör olmasına rağmen, araşidonik asit metabolizmasının ürünü değildir. Trombosit agregasyonu, histamin salınımının artırılması ve bronkospazm gibi etkilere neden olmaktadır.
- b) Mast hücresinden salınan sitokinler: tümör nekroz faktörü, IL-1, IL-4, IL-5 ve IL-6' dan oluşmaktadır. Bunların tamamı çeşitli inflamatuvar hücreleri aktive etme yeteneklerine sahiptirler. IL-4 aynı zamanda bir mast hücresi büyüme faktörüdür ve B lenfositlerden IgE sentezlenmesinde anahtar rol oynayan bir sitokindir¹⁵.

2.2. SİTOKİNLER

Hücresele kaynaklı ve çözünebilen moleküller oldukları için sitokin olarak adlandırılan peptid ya da glikoprotein yapıda kimyasal ileti molekülleridir. Hücreler arası bağlantının kurulması ve hücre içi düzenin sağlanmasında fonksiyon görürler^{15,18}. Hematopoietik hücrelerin gelişimi, inflamatuvar ve immün yanıtın düzenlenmesinde aracılık ederler. Molekül ağırlıkları 10-40 kDa arasında değişebilmektedir¹⁵. Başlıca T hücreleri ve makrofajlar tarafından üretilmektedirler. Nanomolar ve femtomolar gibi çok düşük konsantrasyonlarda etkili olmaktadır. Bu etkiler hücre tipinin özelliğine ve biyolojik iletişim ağına bağlı olarak değişebilmektedir¹⁸. Farklı dokular tarafından üretilen aynı sitokinler bazı dokularda birbirleriyle sinerjistik etki gösterebilirken, bazı dokularda antagonist etki de gösterebilmekte ve birbirlerini inhibe edebilmektedirler¹⁸. Aslında şu an için artık aynı görevin birden çok sitokin tarafından yapılabildiği, ancak çok az sayıda sitokinin temel hücresele fonksiyonların bir kısmında tek başına fonksiyon gördüğü bilinmektedir¹⁸. Kan dolaşımı yolu ile hedef dokulara iletilen sitokinlerin endokrin, parakrin, otokrin ve jukstakrin etkileri bulunmaktadır. Farklı hücrelerden salgılanabilen sitokinlere pleotropik etkili

sitokin adı verilir. Sitokinler, hücrelerin çevresel koşullarındaki değişikliklere bağlı olarak farklı etkiler gösterebilmektedir. Sitokinler membrandaki reseptörleri ya da çözünebilir reseptörleri aracılığı ile etki göstermektedir. Peptid ve glikoprotein yapıda olduklarından¹⁹, hücrelerin proliferasyon ve farklılaşmasında fonksiyon görmelerinden dolayı büyüme hormonları ile aynı mekanizma ya da benzer mekanizmalar aracılığı ile etkili olabilmektedirler. Ancak bununla birlikte hormonlardan çok büyük farklılıklara sahiptirler. Örneğin hormonların konsantrasyonları değişmekle birlikte sürekli olarak sentez edilirler, sitokinler ise sadece ihtiyaç anında sentezlenirler. Bunun yanı sıra sitokinlerin reseptörleri genellikle yüksek affinitelidir, ancak hücre yüzeyinde az sayıda bulunmaktadır¹⁸. Organizmada immün yanıtların düzenlenmesi, inflamasyon, hematopoez ve yara iyileşmesi gibi hemen hemen tüm sistemik reaksiyonlarda işlev görmektedirler. Embriyogenez ve organ gelişimlerinde, nöroimmünolojik, nöroendokrinolojik süreçlerde de anahtar rolleri bulunmaktadır. Mitoz, farklılaşma, hücre göçleri, hücre yaşamı ve hücre ölümü olaylarında negatif ya da pozitif düzenleyici fonksiyonları vardır. Sistemik olaylarda ve hücreler arası etkileşimlerdeki anahtar rolleri nedeni ile kanser, allerji ve hematopoiyetik hastalıklar, transplantasyonda ve genel immünoestimülasyonda rekombinant sitokinler ve sitokin reseptörlerinden yararlanılmaktadır. Sitokinlerin ölçümünde biyolojik ve immün ölçüm yöntemleri kullanılmaktadır¹⁸.

2.2.1. Sitokinlerin Yapıları

Düşük moleküler ağırlıklı proteinler olan sitokinler yapılarında karbonhidrat ve disülfid köprülerinin bulunmasından dolayı parçalanmaya dirençli, stabil ve çözünebilir yapıdadır¹⁸. Aminoasit yapılarında benzerlik olmamasına rağmen üç boyutlu yapılarındaki sınırlı varyasyon, sitokinlerin gelişimsel orijinleri hakkında fikir verebilir. Monomer, dimer ve trimer yapıda olabilen sitokinlerin kristalografik çalışmalarda üç boyutlu yapılarında farklılıklar gözlenmekle beraber dört farklı aile grubu belirlenmiştir.

Tablo 2: Sitokin yapılarının sınıflandırılması.

1) Dörtlü α helikal demet	Kısa zincir alt tipi
	Uzun zincir alt tipi
2) Kısa zincir α/β yapıları	ECF ailesi
	Kemokinler
	İnsülinle ilişkili sitokinler
3) Uzun zincir β tabakalı yapılar	TNF alt grubu
	IL-1, FGF
4) Mozaik yapı	IL-12

2.2.2. Sitokinlerin Sentezi, Salınmaları ve Kaynak Hücreler

İnterlökin-1 ve TNF dışındaki sitokinlerin çoğu diğer polipeptid ve glikoproteinler gibi propeptid olarak kodlanmaktadır. Sentezlenen sitokin amino ucu ile golgi sistemine yönlenecek ve glikoprotein yapıda olanlar glikozillenmekte ve sinyal peptidinin kesilmesi ile düşük molekül ağırlıklı olgunlaşmış protein olarak salgılanmaktadır²⁰. Yarı ömürleri hücre tipine ve gelişme yaşına göre farklılık göstermekle birlikte, genel olarak çok kısadır¹⁸. Genellikle depo edilmediklerinden, ihtiyaç duyulduğu anda üretimleri ani genetik transkripsiyonel aktivasyonlara ve kısa süreli etki gösteren haberci ribonükleik asitlere (mRNA) bağlı olarak gerçekleşir¹⁸. Bundan dolayı çok sıkı kontrol edilen sitokin sentezinde çoğu zaman yeni mRNA sentezi gereklidir.

Mast hücreleri ve trombositlerdeki trombosit büyüme faktörü- β dışında, hücre içinde depolanmayan sitokinlerin üretimi geçicidir. Her sitokini çoğu tek gen ürünü olan bir mRNA kodlamaktadır. Üretimleri ve yanıtlarının derecesi genetik düzeyde kontrol edilmektedir. Sitokin üretimini uyarıcı etkenler arasında bakteri ve ürünlerinin yüzeylere tutunması, kompleman bileşenleri, konak hücre stres proteinleri, değişikliğe uğramış hücre yüzey adezinleri bulunmaktadır. Biyolojik ağda bir sitokinin üretimi diğer sitokinin sentezindeki mekanizmalar üzerine pozitif ya da negatif düzenleyici etki gösterebilmektedir¹⁸. Sitokinler,

immün sistem ve immün sistem dışı hücrelerden; immün yanıtta, inflamasyon, hematopoez, yara iyileşmesi ve zedelenmeye karşı gelişen sistemik yanıt durumunda sentezlenir^{18,21}.

Monosit/makrofajlar, T ve B lenfositleri, doğal öldürücü hücreler gibi immün sistem hücreleri ve böbrek peritübüler hücreleri, karaciğer kupfer hücreleri, hepatositler, fibroblastlar, düz kas hücreleri, endotel hücreleri, kemik iliği stromal hücreleri, sertoli hücreleri, timik epitelyal hücreler, nöronal hücreler, astrositler, hipofiz hücreleri, keratinositler, kondrositler, osteoblastlar ve osteoklastlar gibi immün sistem dışındaki hücreler tarafından da sentezlenebilmektedir.

2.2.3. Sitokinlerin Genel Özellikleri

Polipeptid ya da glikoprotein yapıda olan sitokinlerin molekül ağırlıkları 8-110 kDa arasındadır. Üretimleri sürekli olmayan sitokinlerin, etki alanları çoğunlukla sınırlıdır¹⁵. Özgün reseptörlere bağlanan sitokinler hedef hücrede gen ekspresyonunu değiştirerek etki göstermektedir¹⁸. Hücre çoğalma hızını etkileyen sitokinler, hücrenin farklılaşma durumu ya da farklılaşmış hücrenin fonksiyonlarından bazılarını değiştirmektedir²¹. Sitokinler etkileşimlerini kompleks bir sitokin etkileşim ağı şeklinde düzenlemektedir¹⁸. Sitokin etkileşim ağı çeşitli yollarla kontrol edilmektedir. Sinerjistik ya da antagonist etki gösterir ve çok sıkı kontrol edilir. Diğer sitokinlerin üretimini uyaran ya da engelleyen sitokinler, kendilerinin ya da diğer sitokin reseptörlerinin ekspresyonunu düzenlemektedir. Sitokin etkileşim ağının çoklu fizyolojik rolü bulunmaktadır. Organlar arasındaki iletişimde çoğunlukla sitokinler aracılık etmektedir. Doğrudan etkilere ek olarak immün sistem, sinir sistemi ve endokrin sistemlerin entegrasyonunda işlev görmektedir. Etkileri çoğunlukla bölgesel olan sitokinler, kan dolaşımına salınarak sistemik etki de gösterebilmektedir.

Sitokinlerin işlev görebilmeleri için hücresel ve çözünebilir reseptörlerin varlığı gerekmektedir. Bu reseptörlerin ekspresyonu sitokin ağındaki spesifik sinyallere bağlı olarak düzenlenmektedir. Sitokinler janus kinaz-sinyal aktive edici ve iletileri (JAK/STAT) yolunu kullanmaktadır.

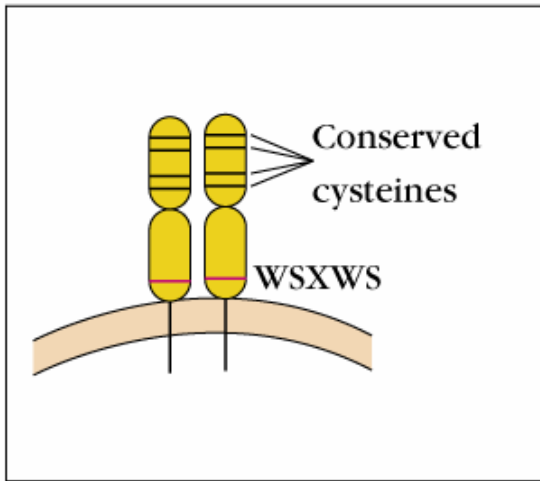
2.2.4. Sitokin Reseptör Aileleri

Sitokin reseptörlerindeki amino asit homologileri ve korunmuş dizilim motifleri, bunların gen aileleri ve alt aileleri olarak gruplandırılmalarına olanak sağlamaktadır. Yapısal organizasyonlarına göre tip 1 ve tip 2 sitokin reseptör ailesi olarak gruplandırılır.

2.2.4.1. Tip 1 Sitokin Reseptör Ailesi

IL-2 (β alt birimi), IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-9, IL-11, IL-12, eritropoietin, GM-CSF, G-CSF, trombopoietin reseptörleri bu grupta yer almaktadır. Tip 1 sitokin reseptör ailesinin korunmuş olan ekstrasellüler bölgesinde yaklaşık 200 aminoasit kalıntısı yer almaktadır. Bu ailenin daha ileri basamaklardaki hücre içi ileti çevirici proteinleri arasında gp130, IL-2 reseptörünün α , β , γ zincirleri bulunmaktadır.

(b) Class I cytokine receptors (hematopoietin)



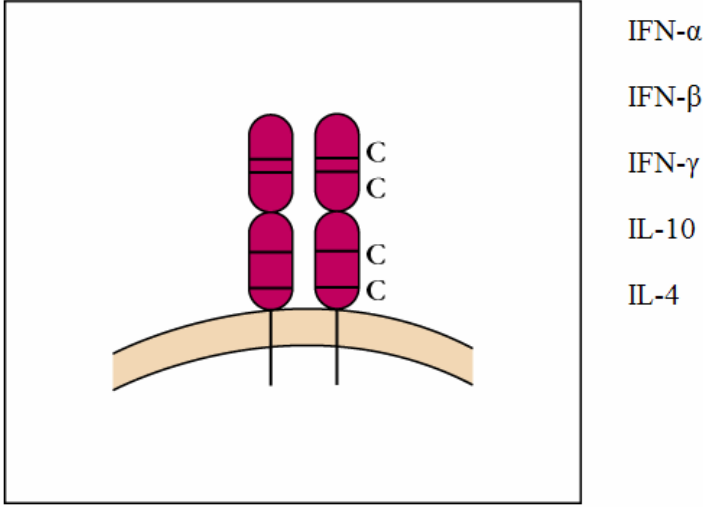
IL-2	IL-13
IL-3	IL-15
IL-4	GM-CSF
IL-5	G-CSF
IL-6	Growth hormone
IL-7	Prolactin
IL-9	
IL-11	
IL-12	

Şekil 3. Klas 1 sitokin reseptörü²².

2.2.4.2. Tip 2 Sitokin Reseptör Ailesi

Tip 1 reseptörlerden farklı olan tip 2 sitokin reseptör ailesinde interferon (IFN)- α , IFN- β , IFN- γ , IL-10 ve IL-4 reseptörleri yer almaktadır. Heterolog alt birimleri bulunan çok birimli proteinler olan bu reseptörlerin intrasellüler ileti yolu, JAK/STAT yoludur²⁰.

(c) Class II cytokine receptors
(interferon)

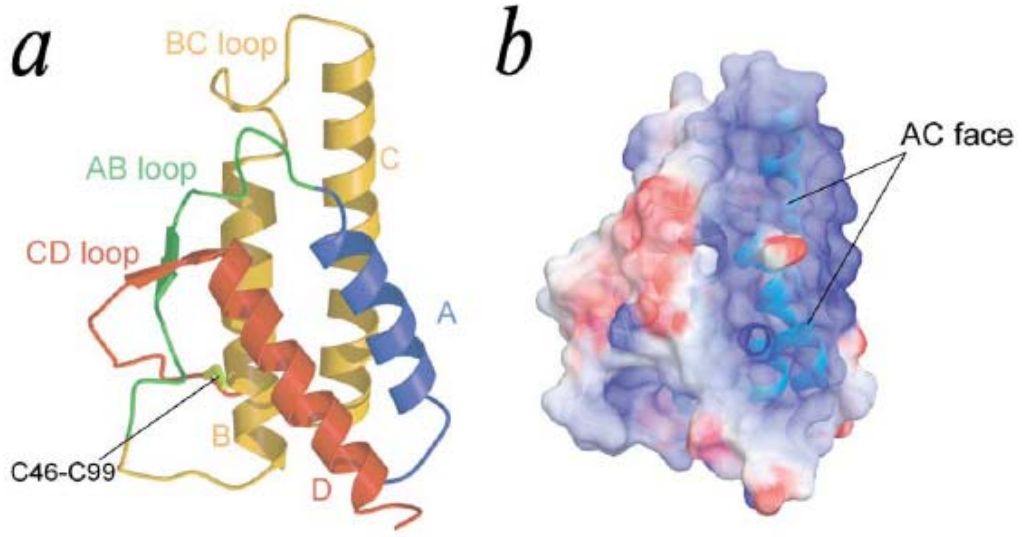


Şekil 4. Klas 2 sitokin reseptörü²³.

2.3. İNTERLÖKİN-4

İnterlökin-4 önceleri B lenfosit diferansiyasyon edici faktör, B lenfosit büyüme faktörü-1, B lenfosit stimüle edici faktör-1, mast hücresi büyüme faktörü-2 ve T lenfosit büyüme faktörü-2 olarak adlandırılmıştır. IL-4 antijen ya da mitojen tarafından aktive edilen T lenfositlerden salınan bir lenfokindir. Kromozomal lokalizasyonu 5q23-31 bölgesindedir. Glikoprotein yapıdadır²⁴ ve moleküler ağırlığı glikozilasyon derecesine bağlı olarak değişmekle birlikte, 15-20 kDa arasındadır. IL-4 sitokin süper ailesinin dördü α helikal demetinin kısa zincir alt grubunda yer almaktadır. Üç boyutlu yapısına bakıldığında sıkıca paketlenmiş, küre şeklinde olup hidrofobik bir kor bölgesi içermektedir. IL-4 pleotropik bir sitokin olup reseptörleri çok çeşitli hücreler tarafından eksprese edilmektedir. T lenfositlerin Th2 alt grubu, bazofiller, eozinofiller, mast hücreleri ve kemik iliği stromal hücreleri tarafından sentezlenebilmektedir¹⁸.

Başlıca görevi IgE ve eozinofil aracılı immün yanıtların regülasyonudur²⁵. B lenfositlerin IgE sentezleyen bellek B lenfositlere dönüşümünden sorumludur. Yardımcı T lenfositlerin, Th2 grubu için hem farklılaşma, hem de büyüme faktörü olarak görev görür. Bunun yanı sıra mast hücreleri için büyüme faktörü olarak etki eder ve endotelial hücreler üzerindeki bazı adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırır¹⁸.

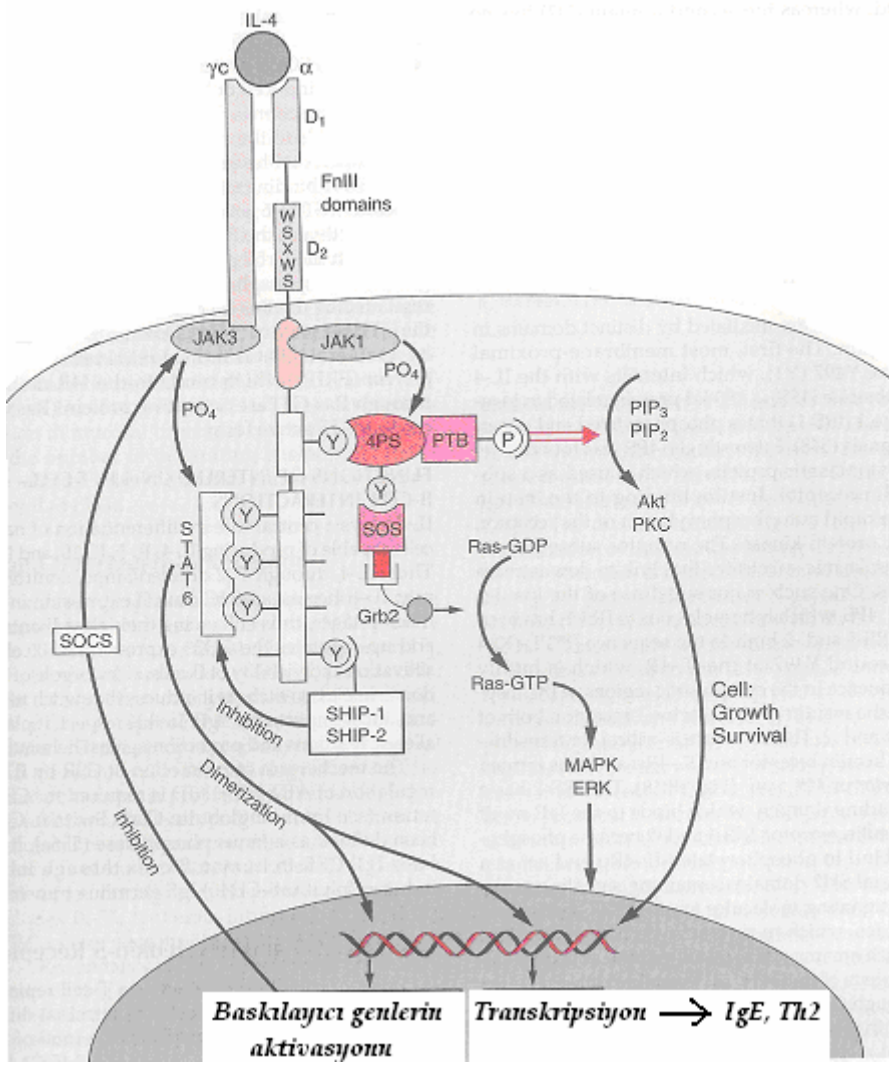


Şekil 5. IL-4'ün yapısal görünümü²⁶.

2.4. İNTERLÖKİN-4 RESEPTÖRÜ

IL-4'ün etkilerine aracılık eden reseptörler hematopoietik ve non-hematopoietik hücreler tarafından eksprese edilmektedir²⁷. IL-4 reseptörü 140 kDa ağırlığındadır. 16. kromozomun uzun bölgesinde yer almaktadır^{28,29,30,31}. IL-4 R α adı verilen yüksek affiniteli ligand bağlayıcı zincir ve ortak γ zinciri adı verilen iki zincirden oluşan moleküler bir komplekstir^{18,32,33,34,35}. Her iki zincir de hematopoietin süper ailesinin birer üyesidir^{34,29}. Yüksek affiniteli IL-4 R α zinciri sitokin reseptör süper ailesinin bir üyesi olup korunmuş WSXWS motifi içerir¹⁸. IL-4 R α subüniti IL-4'ün etkilerine aracılık etmenin²⁴ yanı sıra IL-13'ün etkilerinin ortaya çıkmasında da fonksiyon görür^{36,37}. IL-4 R α subünitinin ekstrasellüler kısmı sitokin bağlayan reseptörlerin tipik özelliklerini gösteren küçük bir modeldir. Her biri yaklaşık 100 rezidü uzunluğunda olup, kısa bir bağlayıcı segment ile birbirine bağlanan iki adet fibronektin III bölgesi vardır. Ortak γ zinciri IL-4 reseptörünün fonksiyonel kısmını oluşturmaktadır¹⁸. IL-4 reseptörü ortak γ zinciri, α zincir sinyallerinin amplifiye edilmesinden^{38,39} ve reseptörün IL-4'ü bağlama afinitesinin artırılmasından sorumludur¹⁸. Bu zincir IL-2, IL-4, IL-7, IL-9 ve IL-13 gibi farklı sitokinlerin reseptörlerinde de bulunmaktadır³³. T ve B lenfositler, monositler, makrofajlar, mast hücreleri, kas hücreleri, nöroblastlar, stromal hücreler, myeloid hücreler, granülositler ve daha birçok hücre yüzeyinde

monomerik, yüksek afiniteli IL-4 reseptörü bulunmaktadır¹⁸. T ve B lenfositlerin yüzeyinde maturasyon ve aktivasyonuna bağlı değişim göstermekle birlikte¹⁸ yaklaşık 300 civarında IL-4 reseptörü bulunmaktadır. Sitokinle hücre yüzeyinde yer alan reseptörün bağlanmasını takiben ortak zincir olan γ zinciri intrasellüler olarak aktivasyon göstermek üzere harekete geçer ve sitoplazmik tirozin kinaz ailesinden Janus kinazlar aktive edilir²⁷. IL-4 R α subüniti Jak 1 ile bağlantıda iken, ortak γ zinciri Jak 3 ile bağlantılıdır^{38,40,41}. Hem γ zincirinde, hem de JAK3'te yer alan tirozin rezidüleri fosforillenir^{34,41}. Bu fosforilasyon sonrasında STAT proteinleri γ zincirindeki fosforile olmuş tirozin rezidüleri ile bağlantıya geçerek kendilerinin de fosforillenmesini sağlarlar^{41,42}. Substratlar arasında reseptörün kendisi, insülin reseptörü benzeri substratlar IRS-1, IRS-2 (4PS) ve STAT6 transkripsiyon faktörü yer almaktadır^{34,42}. Fosforile olmuş STAT'lar dimerler oluşturarak hücresel transkripsiyon mekanizmalarını değiştirecekleri hücre nükleusuna geçerler. Hedef genlerin promotor bölgelerindeki gama aktive olmuş dizileri adı verilen ortak bağlanma bölgelerine bağlanarak, IL-4'ün etkilerinin oluşumunu sağlarlar^{38,40,41}.



Şekil 6. IL-4 reseptör sinyalizasyonu⁴³.

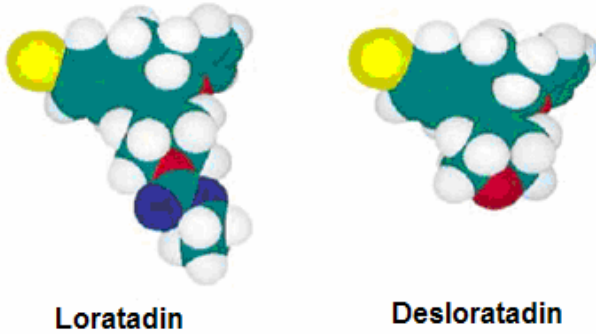
Büyüme faktörlerinden farklı olarak bu yol çekirdeği doğrudan etkilemektedir. IL-4 transmembran sinyallerin oluşumunu tip 1 ve tip 2 olmak üzere iki tip reseptörden birine bağlanarak gerçekleştirir. Tip 1 reseptör IL-4 R α ve ortak γ zincirlerinden oluşurken, tip 2 reseptör IL-4 R α ve IL-13 R α zincirlerinden oluşur⁴⁴. Tip 1 reseptörler sadece IL-4 tarafından aktive edilebilirken, tip 2 reseptörler hem IL-4, hem de IL-13 tarafından aktive edilebilirler²⁶.

Çeşitli allerjik ve inflamatuvar hastalıklarda IL-4 reseptörünün α subunitinde oluşan mutasyonlar saptanmıştır. Bu bölgede yaklaşık 13 polimorfizmden bahsedilmektedir²⁸. Bunlardan biri 1902. pozisyonda adenin yerine guanin bazının geçtiği Q576R polimorfizmidir^{42,45}. Bu baz değişimi prekürsör proteinin 576'nci pozisyonunda glutamin yerine arginin amino asidinin

geçmesi ile sonuçlanır^{42,45}. Amino asid değişimi reseptörün intrasitoplazmik kısmında fazladan bir pozitif alan yaratır. Oluşan pozitiflik substratların bağlanma bölgelerinin substrata olan ilgisini arttırır³⁴. Bu mutasyon reseptörün liganda yanıtında aşırılığa neden olur⁴⁵. Ligandın mutant reseptöre bağlanması 575'inci pozisyondaki tirozin rezidüsünün sinyal iletici moleküllere bağlanma ilgisini arttırır⁴².

2.5. DESLORATADİN

İkinci kuşak antihistaminik olan loratadinin biyolojik aktif metaboliti olan desloratadin H1 histaminik reseptörleri bloke eder¹⁴. Diğer antihistaminiklere göre desloratadin reseptörlere daha yüksek ilgiyle bağlanır⁴⁶. Desloratadin hem IgE bağımlı, hem de IgE'den bağımsız yollarla gelişen histamin salınımını inhibe etmektedir⁴⁶. Desloratadin mast hücreleri üzerindeki etkisini intrasellüler kalsiyum salınımını inhibe ederek göstermektedir⁴⁶. İmmün yanıtların ne kadar kompleks olduğu düşünöldüğünde sadece histamin blokajının allerji ve ilişkili tüm semptomların ortadan kalkmasında yeterli olamayacağı açıktır. Bundan dolayı desloratadinin H1 blokajından bağımsız başka yollarla da etki göstermesi olasıdır.



şekil 7. Loratadin ve desloratadin molekülleri¹⁴.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma, Ocak 2005-Ocak 2006 tarihleri arasında yapılmış ve Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Dermatoloji Anabilim Dalı tarafından takip edilen kronik ürtikerli 102 kişi hasta grubunu oluşturmuştur. Kontrol grubu ise herhangi bir allerjik hastalık öyküsü ve bulgusu bulunmayan 80 kişiden oluşmuştur. Hasta ve kontrol grubuna dahil edilen bireyler çalışmaya alınma ve dışlama kriterleri açısından ayrıntılı bir incelemeden geçirilmiştir. Yakınmaları altı haftadan daha kısa olanlar, atopi öyküsü olanlar, fiziksel, ilaçlar, yiyecekler veya böcek ısırması sonrası gelişen ürtikerli hastalar, böbrek, karaciğer ve kardiyak fonksiyon bozukluğu olan bireyler çalışma dışı bırakılmıştır. Kriterleri karşılayan bireyler çalışmaya davet edilip, biyokimyasal inceleme için kan örnekleri alınmıştır.

Araştırmaya alınan bütün hastalar ve kontrol grubu araştırma hakkında bilgilendirilmiş, bu amaçla hazırlanan Aydınlatılmış Onam Formu (Ek 1) okutularak, onayları alınmıştır.

Yaş, cinsiyet, hastalık öyküsü, aile hikayesi, hastalık süresi, aldığı tedaviler, kaşıntı, uyku ve günlük aktiviteler üzerine etkisini içeren bir Hasta Takip Formu (Ek 2) düzenlenerek, bu form bütün olgular için doldurulmuştur.

Hasta ve kontrol gruplarından genetik çalışma için etilendiaminotetraenoik asit'li (EDTA) tüpe alınan kan örnekleri 2-8°C'de çalışma gününe kadar saklanmıştır. Hastalardan tedavi uygulamasından önce ve sonra IL-4 düzeylerini belirlemek amacıyla düz tüpe alınan kanlar, serumları ayrıldıktan sonra çalışma gününe kadar -20°C'de saklanmıştır.

Hasta ve kontrol gruplarında çalışılan parametreler:

- Tedavi öncesi IL-4 düzeyleri
- Tedavi sonrası IL-4 düzeyleri
- IL-4 Reseptör geni Q576R polimorfizmi

3.1. Araç ve Gereç

Çalışmada kullanılan cihazlar:

- Vorteks (Velp Scientifical, Italy)

- Santrifüj (Nüve NF 800)
- Soğutucu (Bosch)
- Derin dondurucu (Uğur Derin Dondurucu)
- Light Cycler 2.0 Real Time PCR (Roche Diagnostics GmbH Mannheim, Germany)
- ELISA okuyucu (Organon Teknika Microwell System, Austria)

Çalışmada kullanılan diğer malzemeler:

- Eppendorf tüpü (Isolab 1.5 ml'lik)
- 0.04 ml %7.5'luk EDTA-K₃ içeren 5 ml'lik cam tüp
- Otomatik pipet (Medisis)
- Cam pipet (Precicolor HGB, Germany)
- Beher (Symax)
- Dereceli silindir (Isolab)
- 10 ml'lik düz tüp (Venoject)

Çalışmada kullanılan kitler:

- High Pure Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) Template Kit, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany, Cat no: 1796828
- LightCycler FastStart DNA Master Hybridization Probes, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany, Cat no: 3003248
- IL-4 R α Q576R Toolset for LightCycler, Genes-4U, AG Switzerland, Lot no: 001
- BD OptEIA Human IL-4 ELISA Kit II, BD Biosciences Pharmingen, US, Cat no: 550614

Çalışmada kullanılan kimyasallar

- İzopropanol (Merck)
- Mutlak etil alkol (Reidel-Haen)

3.2. Yöntemler

3.2.1. IL-4 Reseptör Geni Q576R Polimorfizmi

3.2.1.1 Tam Kandan Deoksiribonükleik Asit (DNA) Eldesi

Prencip: Hücreler proteinaz K ile kısa bir inkübasyon ile parçalanırlar. Bu sırada açığa çıkan nükleik asitlerin, nükleazlar tarafından parçalanmaması için, ortama tüm nükleazları inhibe eden guanidin-hidroklorik asit eklenir. Nükleik

asitler, filtre tüplerinde bulunan ve nükleik asitlere seçici olan cam fiberlere bağlanır. Diğer hücresel elemanlar, özel bir inhibitör uzaklaştırıcı tampon kullanılarak, tekrarlayan yıkama ve santrifüj basamaklarıyla ortandan uzaklaştırılır. Son aşamada düşük yoğunluklu tuz çözeltisi ile nükleik asitlerin cam fiberden ayrılması sağlanır.

Ayırıcılar: DNA elde edilmesi sırasında High Pure PCR Template kiti kullanıldı. Kit içeriği ve hazırlanması Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 3: High pure PCR template kit içeriği.

Kimyasal	Miktarı	İçeriği
Bağlayıcı tampon	20 ml	6 M guanidin-HCl, 10 mM üre, 10 mM Tris-HCl, %20 Triton X-100 (v/v), pH: 4.4
Proteinaz K	90 mg	Liyofilize proteinaz K
İnhibitör uzaklaştırıcı tampon	33 ml	5 M guanidine-HCl, 20 mM Tris-HCl, pH: 6.6
Yıkama tamponu	20 ml	20 mM NaCl, 2 mM Tris-HCl, pH: 7.5
Elüsyon tamponu	40 ml	10 mM Tris, pH: 8.5

Proteinaz K: Liyofilize haldeki reaktife, 4.5 ml steril distile su eklenerek kullanıma hazır hale getirilir. Tamamı kullanılmayacaksa porsiyonlanarak, -20°C’de saklanır.

İnhibitör uzaklaştırıcı tampon: 33 ml reaktife 20 ml mutlak etil alkol eklenerek hazırlanır.

Yıkama tamponu: 20 ml reaktife 80 ml mutlak etil alkol eklenerek hazırlanır. Bağlayıcı ve elüsyon tamponları kullanıma hazırdır.

Yöntem:

- Ependorf tüpüne, 200 µl EDTA’lı tam kan konur ve üzerine sırasıyla 200 µl bağlayıcı tampon, 40 µl proteinaz K eklenir, vortexlenir.

- 10 dakika 72 °C'de inkübe edilir.
- Tüpe 100 µl izopropanol eklendi, vortexlenir ve karışım özel filtre tüplerine aktarılır.
- 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj edildi ve filtreden geçen karışım atılır.
- Filtre tüpün içine 500 µl inhibitör uzaklaştırıcı tampon eklenir.
- 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj edilir ve filtreden geçen karışım atılır.
- Filtre tüpün içine 500 µl yıkama tamponu eklenir.
- 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj edilir ve filtreden geçen karışım atılır.
- İkinci kez filtre tüpün içine 500 µl yıkama tamponu eklenir.
- 1 dakika 8000 rpm'de santrifüj edilir ve filtreden geçen karışım atılır.
- Filtre tüp boşaltılır ve 10 saniye 8000 rpm'de santrifüj edilir.
- Filtre tüpü, yeni bir ependorf tüpü içine yerleştirilir, 72°C'de bekletilmiş olan elüsyon tampondan 200 µl filtre tüpe pipetlenir.
- 1 dakikalık 8000 rpm'de santrifüj sonunda, filtre tüpten ayrılan, saf DNA elde edilir.

3.2.1.2. Polimeraz Zincir Reaksiyonu

Lökositlerden elde edilen DNA'nın, analiz yapılacak bölgesinin, belli miktarda çoğaltılması gerekir. PCR, DNA'nın bu bölgesinin iki ucuna özgü, sentetik primer (öncül)'ler, Taq polimeraz ve deoksi nükleotit trifosfatlar (dNTP) kullanılarak çoğaltılması esasına dayanır. Primerler öncü DNA görevi görürken, Taq polimeraz ise DNA polimeraz görevi görmektedir. PCR, denatürasyon, yapışma (annealing) ve zincir uzaması (extension) olmak üzere üç aşamadan oluşur. İlk aşama olan denatürasyonda, yüksek ısı etkisiyle çift sarmal DNA'nın ayrılması sağlanır. İkinci aşama olan yapışmada, sıcaklık düşürülerek, primerlerin kendilerini tamamlayıcı DNA dizilerine bağlanmaları sağlanır. Son aşama olan uzamada ise, Taq polimeraz etkisiyle, ortamda bulunan dNTP'ler primerlere eklenerek DNA zincirleri sentezlenmiş olur. Bu döngünün tekrarlanması ile istenen DNA bölgesi çoğaltılmış olur.

3.2.1.3. Melting Curve Analizi

Araştırılmak istenen gen bölgesi, spesifik primerler kullanılarak, PCR ile çoğaltılırken, özel bir çift hibridizasyon probu ile işaretlenir. Hibridizasyon problemleri, oligonükleotid dizileridir. Problemlerden biri, 5' ucundan LightCycler-Red 640 ile işaretlenmiş ve 3' ucundan fosforile edilmiştir. Diğer hibridizasyon probu ise 3' ucundan Fluorecein ile işaretlenmiştir. LightCycler-Red 640 işaretli hibridizasyon probu (çapa probu), mutasyona uğramamış hedef diziye bağlanırken diğer prob (fluorescein işaretli prob) ise mutasyon aranan kısma bağlanır. Bu hibridizasyon problemleri PCR'ın yapışma basamağında, çoğaltılan gen bölgesinin iç dizilerine bağlanırlar.

Şablon DNA, hibridize edildikten sonra bu problemler birbirlerine yaklaşırlar. Donör florofor olan Fluorecein, LightCycler cihazının ışık kaynağı tarafından uyarılınca, enerjinin bir kısmı akseptör florofor olan LightCycler-Red 640'a transfer olur ve iki florofor arasında, floresans rezonans energy transferi (FRET) gerçekleşir. Red 640 tarafından emilen floresans, LightCycler cihazı tarafından ölçülür. Amplifikasyon ilerledikçe ölçülen floresans gittikçe artar. Melting Curve basamağında, ortam saniyede 0,1 °C ısıtılır ve o gen bölümünün erime ısısına (T_m) ulaşıldığında, DNA çift zinciri ayrılır ve FRET engellenerek, ölçülen floresans belirgin şekilde azalmış olur.

Erime ısısı, DNA bölümünün uzunluğuna, guanin (G) -sitozin (C) içeriğine bağlı olduğu gibi mutasyon varlığına bağlı olarak da değişebilir. Mutasyon mevcutsa diziye bağlanmış olan prob daha dayanıksız ya da daha dayanıklı bir yapı oluşturarak, doğal tipten farklı bir T_m gösterir. Böylece mutasyonlu DNA, doğal tipten, T_m'ine bakılarak ayırt edilebilmektedir.

3.2.1.4. IL-4 R Geni Q576R Bölge Polimorfizmi PCR Protokolü

Polimeraz zincir reaksiyonu ve mutasyon görüntüleme için, IL-4 R Q576R Toolset for LightCycler, Genes-4U kiti kullanılmıştır, kit içeriği tablo 2'de verilmiştir. Ayrıca Tris-HCL tampon içinde belli konsantrasyonlarda dNTP'ler, magnezyum klorür ve Taq Polimeraz içeren LightCycler FastStart DNA Master Hybridization Prob kiti kullanılmıştır. Örnek başına kullanılan miktarlar tablo 3'de, uygulanan PCR protokolü Ek 3'de verilmiştir.

Tablo 4: IL-4 R α Q576R polimorfizmi lightcycler, Genes-4U kit içeriği.

Reaktif	İçerik	Hazırlanış ve miktar
OligoTool	PCR için liyofilize oligonükleotidler Mutasyon saptama ve çapa problemleri Primerler	50 μ l LCPCR çözücünde çözülür. 16 test için
Kontroller	Liyofilize DNA	20 μ l suda çözülürler.
Lightcycler-PCR Solvent	OligoTool için solvent	300 μ l

Tablo 5: Örnek başına kullanılan IL-4 R α Q576R toolset for lightcycler, Genes-4U kit içeriği miktarları.

Reaktif	μ l
Çözölmüş OligoTool IL-4 R Q576R	2.8
Su	8.8
MgCl ₂ mM	2.4
Master hibridizasyon probu 10X	2
Toplam reaksiyon karışımı	16
Örnek DNA'sı ya da Kontrol	4
Son hacim	20

3.2.2. IL-4 Ölçüm Yöntemi

Yöntem solid faz sandviç enzim bağlı immüno ölçüm yöntemi (ELISA) prensibine dayalı olarak çalışmaktadır. Mevcut kuyucukların cidarı IL-4'e özgü monoklonal antikorlar ile kaplanmıştır. Standart ve örnekler kuyucuklara eklenir. Ortamda bulunan IL-4 kuyucukların kenarında bulunan kendine özgü antikorlara bağlanır. Daha sonra kuyucuklar yıkama solüsyonu ile yıkanır. Streptavidin-

horseradish peroksidaz ile biotinlenmiş anti-IL4 antikorları karıştırıldıktan sonra kuyucuklara eklenir ve antikor-antijen-antikor sandviç kompleksi oluşur. Kuyucuklara tekrar yıkama işlemi yapıldıktan sonra ortama tetrametilbenzidin substrat solüsyonu eklenir. IL-4 düzeyi ile orantılı olarak artan mavi renk oluşumu gözlenir. Daha sonra stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durdurulur. Stop solüsyonunun eklenmesi ile oluşan sarı rengin şiddeti ELİSA okuyucusunda 450 nm'de ölçülerek IL-4 düzeyleri hesaplanır.

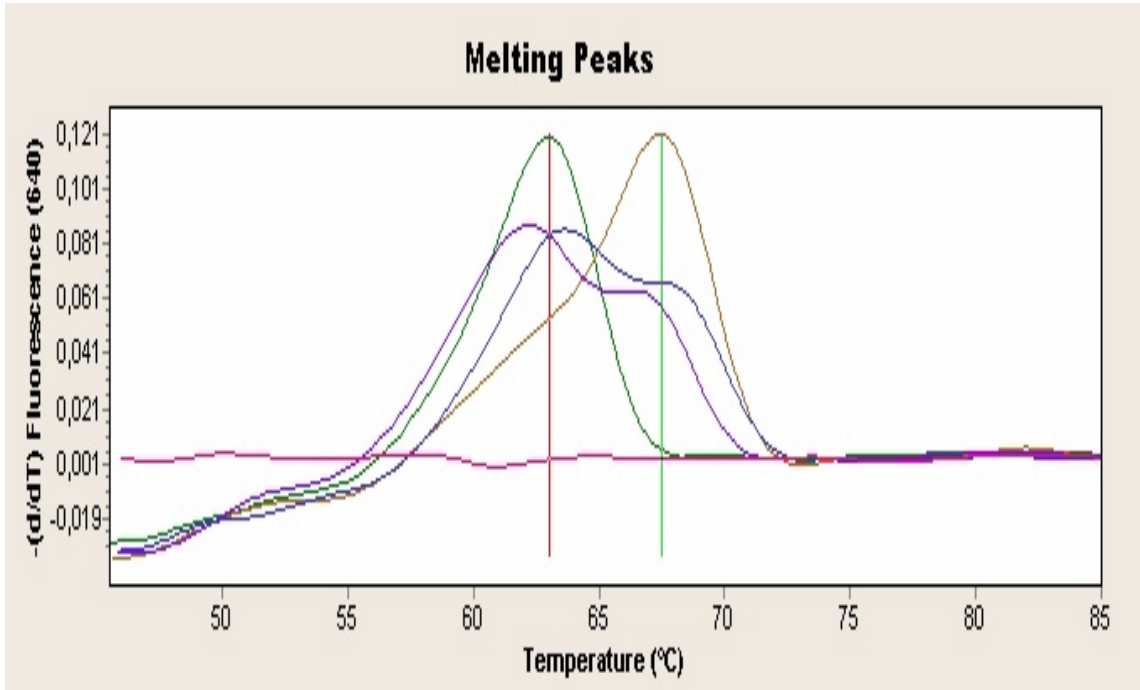
İstatistiksel Yöntem

Bu çalışmada hasta grubunda tedavi öncesi ve sonrası sitokin düzeylerinin karşılaştırılmasında Willcoxon Sign Testi, hasta ve kontrol grupları arasında sitokin düzeylerinin karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi, grup ile genotip arasındaki ilişki için Ki-Kare Testi, tedavi öncesi ve sonrası semptom skorları karşılaştırması için Willcoxon Sign Testi ve Mann-Whitney U testleri kullanılmıştır. $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Olguların Genel Özellikleri

Çalışmamızda bakılan polimorfik yapıda IL-4 R α zincirinde 1902. pozisyonda adenin, guanin bazı ile yer değiştirmiştir. Bunun sonucunda ise prekürsör proteinin 576. pozisyonunda glutamin olması gereken bölgede arginin amino asidi yer almaktadır. Polimorfik RR allelinin Tm'i 62.9 ± 2.5 iken, doğal tip QQ allelinin Tm'i ise 67.5 ± 2.5 °C şeklinde bulundu.



Şekil 8. IL-4 R α Q576R için melting curve analizi grafiği. Mavi ve yeşil örnekler kontrol, mor ve kahverengi örnekler ise hastalara aittir. Yeşil örnek RR mutant tip homozigot genotip kontrolü ve mavi QR heterozigot genotip kontrolüdür. RR allel Tm 62.9 ± 2.5 , QQ allel Tm 67.5 ± 2.5 °C.

102 hasta ve 80 kontrolde gerçekleştirilen IL-4 R α Q576R polimorfizm analizinde hasta grubunda QQ genotipinin görülme sıklığı %75.5 iken kontrol grubunda %76.3 olduğu belirlendi. Hasta grubunun %20.6'sı, kontrollerin ise %23.8'i QR genotipine sahipti. Hastalarda RR genotipi %3.9 oranında tespit

edilirken, kontrol grubunda RR genotipine sahip bireye rastlanmadı. Her iki grup arasında QQ, QR ya da RR genotiplerinin dağılımı açısından değerlendirme yapıldı ve istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı(p=0,089).

Tablo 6: QQ, QR ve RR polimorfizmlerinin hasta ve kontrol gruplarında dağılımı.

Genotip Dağılımı		GRUP		Toplam
		Kontrol	Hasta	
QQ	Sayı	61	77	138
	Grup içi %	76,3%	75,5%	75,8%
QR	Sayı	19	21	40
	Grup içi %	23,8%	20,6%	22,0%
RR	Sayı	0	4	4
	Grup içi %	0%	3,9%	2,2%
Toplam	Sayı	80	102	182
	Grup içi %	100,0%	100,0%	100,0%

Grupların genotip dağılımı açısından değerlendirilmesini takiben serum IL-4 düzeyleri açısından hasta ve kontrol grubu arasında farklılık olup olmadığına bakıldı. Kontrol grubunda bulunan 80 bireyin ortalama IL-4 düzeyleri 19.50 pg/mL iken, çalışma grubundaki 102 hastanın ortalama IL-4 düzeylerinin 19.76 pg/mL olduğu belirlendi. Gruplar arasında IL-4 düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık gözlenmedi (p=0.964).

Tablo 7: Hasta ve kontrol gruplarında tedavi öncesi IL-4 düzeyleri.

	GRUP	n	Ortalama	Std. Sapma	p
Tedavi Öncesi (pg/mL)	Kontrol	80	19,50	3,01	0,964
	Hasta	102	19,76	3,24	

Hasta grubunda yer alan ve desloratadin tedavisi verilen 40 kişinin tedaviye başlanmadan önce ve tedavi sonrasında kanları alınarak, serumda IL-4 düzeyleri ölçüldü. Elde edilen ölçüm sonuçları Tablo 8’de verilmiştir.

Tablo 8: Hasta grubunda tedavi öncesi ve sonrası IL-4 düzeyleri.

	Ortalama	n	Std. Sapma	P
Tedavi Öncesi (pg/mL)	19,19	40	3,71	0,136
Tedavi Sonrası (pg/mL)	18,60	40	4,12	

Hastaların genotiplerinin kaşıntının şiddeti, uyku düzeni ve günlük aktivite skorları üzerine etkisi incelendi. Tablo 9, 10 ve 11’de görüldüğü gibi QQ ya da QR genotiplerine sahip olmanın skorlar üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisinin olmadığı tespit edildi.

Tablo 9: QQ ya da QR genotiplerinin tedavi öncesi ve sonrası kaşıntı skorlarına etkisi.

	MUTASYON	Yüzde			
		25	50	75	p
Tedavi Öncesi Kaşıntı Şiddeti	QQ	1,00	2,00	3,00	0,153
	QR	1,50	3,00	3,00	
Tedavi Sonrası Kaşıntı Şiddeti	QQ	,00	1,00	1,00	0,493
	QR	,00	1,00	2,00	

Tablo 10: QQ ya da QR genotiplerinin tedavi öncesi ve sonrası uyku düzenine etkisi.

	MUTASYON	Yüzde			
		25	50	75	p
Tedavi Öncesi Uyku Düzeni	QQ	,00	1,50	2,00	0.834
	QR	,00	2,00	2,00	
Tedavi Öncesi Uyku Düzeni	QQ	,00	,00	,00	0.529
	QR	,00	,00	,00	

Tablo 11: QQ ya da QR genotiplerinin tedavi öncesi ve sonrası günlük aktivitelere etkisi.

	MUTASYON	Yüzde			
		25	50	75	p
Tedavi Öncesi Günlük Aktiviteler	QQ	,25	1,50	2,00	0.340
	QR	,50	2,00	2,75	
Tedavi Sonrası Günlük Aktiviteler	QQ	,00	,00	,00	0.172
	QR	,00	,00	1,00	

5.TARTIŞMA

Ürtiker toplumda oldukça sık rastlanan hastalıklardandır. Dermatolojik acillerin ilk sırasında yer almaktadır. Gerçek insidans ve prevalansı hakkında çok net bir bilgi olmamakla beraber, toplumun yaklaşık %15-23'ünün bu hastalıktan etkilendiği söylenmektedir.

Hastalık epizodların süresine göre akut ve kronik olarak sınıflandırılabilir; akut ürtikerde yakınmalar altı haftadan önce sonlanırken, kronik ürtiker tanısı yakınmaların altı haftadan daha uzun sürmesi ile konur.

Hastalarda semptomlar allerjik ya da otoimmün mekanizmalara bağlı olarak gelişebilmektedir. Semptomların başlaması mast hücrelerine üç farklı antikor bağlanması ile gerçekleşebilir. Bunlar antijene spesifik bir antikor, IgE antikoruna karşı oluşan otoantikor ya da hücre yüzeyinde yer alan yüksek afiniteli IgE reseptörlerine karşı oluşan antikorlardır. Antikorların bağlanması sonrasında, mast hücrelerinden başta histamin olmak üzere, önceden sentezlenmiş mediyatörlerin salınımı gerçekleşirken, bir yandan da sekonder mediyatörlerin sentezi ve salınımı başlar.

Mast hücrelerinden salınan sekonder mediyatör olan IL-4; IgE antikorlarının sentez ve salınımının artırılması, B lenfositlerin antikor sentezleyen bellek hücrelere dönüştürülmesi ve hücre yüzeyinde yer alan yüksek afiniteli IgE reseptörlerinin ekspresyonunun artırılması gibi çok sayıda allerjik yanıtın oluşumunda görev alır.

Allerjik ve inflamatuvar yanıtlardaki biyolojik varyasyonlar ve bu yanıtları oluşturan çeşitli sitokinlerin ve sitokin reseptörlerinin öneminin daha iyi anlaşılması, araştırmacıları bu genlerdeki yapısal ve fonksiyonel değişikliklerin analizlerini yapmaya yöneltmiştir.

IL-4 etkilerini hücre yüzeyinde yer alan reseptörlerine bağlanarak gösterir. Hücre yüzeyinde yer alan reseptör IL-4'e özgü α zinciri ve ortak γ zinciri olmak üzere iki zincirden oluşmuştur.

Bu reseptörle ilgili olarak, yapılan çok sayıda çalışmada yaklaşık olarak 13 tane varyant formun varlığı tespit edilmiştir²⁴. Bunlardan 7 tanesinde oluşan mutasyon, amino asid değişimi ile sonuçlanmaktadır²⁴. Reseptörde oluşan

Q576R polimorfizminde, 1902. pozisyondaki adenin yerinde guanin bazı bulunmaktadır. Reseptör geninde oluşan bu tek nükleotid değişimi reseptör proteininde 576. pozisyonda glutamin yerine arginin amino asidi yer almasıyla sonuçlanır^{42,45}. Reseptörde oluşan bu mutasyonun, reseptörün liganda olan yanıtının artmasına yol açtığı düşünülmektedir⁴⁷. Bu varyant formun varlığı ile IL-4'ün etkilerinin arttığı ve uzun sürdüğü ileri sürülmektedir.

Reseptördeki bu varyant formların bazılarının astım, ilaç allerjisi ve allerjik rinit gibi hastalıkların oluşumundaki etkileri çeşitli araştırmacılar tarafından, farklı toplumlar üzerinde yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur.

Garcia ve arkadaşları astımlı hastalarda C33T ve Q576R polimorfizmlerinin sıklığını araştırmışlar. Hasta ve kontrol gruplarında bu polimorfizmleri tek tek taşıyan bireylerde allelik ya da genotipik dağılım açısından herhangi bir farklılık bulunamazken, her iki mutant formun bir arada olduğu bireylerde astım ile anlamlı bir korelasyon bulunmuştur⁴⁸. Howard ve ark. Hollanda'lılarda IL-4 R α subünitine ait Ile50Val, E375A, C406R, S478P ve Q551R polimorfizmlerinin astım ve atopi gelişimi ve şiddeti üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla hastalarda IgE düzeyleri ve polimorfik reseptörlerin sıklığına bakmışlardır. Çalışma sonucunda Hollanda toplumunda IL-4 R α 'da oluşan mutasyonların atopiye yatkınlık, astım gelişimi, bronşiyal hiperreaktivite gelişimi ve IgE düzeyleri üzerinde etkili olduğunu bulmuşlardır⁴⁹. Haagerup ve arkadaşlarının araştırmasında ise, atopik bünyeye sahip 424 gönüllü Danimarkalı'da Q576R ve Ile50Val polimorfizm sıklıkları, total IgE ve spesifik IgE düzeyleri araştırılmıştır. Ancak bu çalışmada Timothy ve arkadaşlarının Hollanda popülasyonunda yaptığı araştırmanın aksine her iki polimorfizmin de Danimarka popülasyonunda atopiye yatkınlıkla bağlantılı olmadığı sonucuna varılmıştır⁵⁰.

Bottini ve arkadaşları astımlı hastalarda Ile50Val, Ser478Pro ve Gln551Arg polimorfizmleri ve IgE düzeyleri ile ilişkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada polimorfizmlerin astım ya da IgE düzeyleri ile bağlantılı olmadığı bulunurken⁵¹, atopik dermatitli Japonlar üzerinde yapılan bir başka çalışmada IL-4 R α 'da oluşan Ile50Val polimorfizminin, atopik hastalardaki yüksek IgE düzeyleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ancak hastalık ile Ile50Val polimorfizm sıklığı arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır⁵². Bir başka araştırmacı tarafından yine Japonlarda yapılan bir çalışmada ise Ile50Val polimorfizminin

hem artmış IgE düzeyleri, hem de allerjik astım ile bağlantılı olduğu bulunmuştur⁵³. Almanya ve İsviçre’de astımlı popülasyonda, IL-4 reseptör α gen varyantlarından Ile50Val, E375A, C406R, S478P ve Q551R polimorfizmleri bakılmış ve bu mutasyonların, total ve spesifik IgE düzeyleri ve astım ile bağlantıları incelenmiştir. Reseptörün intrasitoplazmik bölgesinde yer alan bir polimorfizm olan Q551R mutant formu dışında hiçbirisi ile anlamlı bir bağlantı bulunamamıştır. Ile50Val, S478P ve Q551R mutant formlarında total IgE düzeylerinde hafif bir artış gözlenirken, E375A ve C406R’da total IgE düzeyleri düşük bulunmuştur. Ancak bunlar istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır. Çalışılan mutasyonların hiçbirisi astımın şiddeti ile korelasyon göstermemiştir⁵⁴. İsveç’te atopik dermatitli bireylerde IL-4 ve IL-4 R α genleri ile hastalık arasında bir ilişki olup olmadığı araştırılmıştır. Çalışma sonunda IL-4 geninde oluşan C590T polimorfizmi ile atopik dermatitin şiddeti arasında bağlantı bulunurken, IL-4 R α geni ve atopik dermatit arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır²⁴.

Kronik ürtiker gibi hem otoimmün, hem de allerjik mekanizmalara bağlı olarak gelişen hastalıklarda mutant reseptörlerin görülme sıklığı ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır.

Bu çalışmada kronik ürtikerli hastalarda IL-4 reseptörü α Q576R polimorfizminin sıklığı araştırıldı. Kontroller ve hastalar arasında mutant ya da normal genotipe sahip olma açısından farklılık bulunmadı. Çalışılan popülasyonda bu mutasyona sahip olmanın, kronik ürtiker gelişimi ile bağlantısı olmadığı sonucuna varıldı. Çalışmadan elde edilen sonuçlar, farklı etnik gruplarda allerjik temellere bağlı olarak gelişen astımlı hastalarda yapılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir.

İki farklı araştırma grubu tarafından IL-4 R α Q576R polimorfizminin IL-4’e yanıtın artışında etkisi olup olmadığı araştırılmıştır. Bu amaçla IL-4 R α Q576R ve Y575F mutasyonu içeren DNA’larda, DNA’ların tirozin fosforilasyon sinyallerine, DNA’ya bağlanma aktivitelerine ve CD23 indüksiyonlarına bakılmış, bu mutasyonlar ve wild tip genotipe sahip olanların reseptör yanıtlarında birbirine benzer sonuçlar gözlenmiştir. İki polimorfik yapıdan hiçbirinin IL-4 sinyal transdüksiyonu üzerinde arttırıcı bir etkiye neden olmadığı gözlenmiştir^{27,40}.

Tüm bu araştırma sonuçlarından da anlaşılacağı üzere elde edilen sonuçlar oldukça karmaşık bir görüntü vermektedir ve spekülasyonlara açıktır.

Ancak allerji patogenezinin çoklu genetik ve çevresel faktörlerin birleşimi sonucunda oluştuğu göz önünde bulundurulursa, IL-4 R α geni hala araştırılması gereken bir gendir. Reseptörde ya da reseptör kompleksinin sinyal ileti moleküllerinde oluşan varyasyonların da patogenez ve ortaya çıkan klinik durumlar üzerinde belirleyici etkileri olması mümkündür. Konu ile ilgili çalışmalar yapan bazı araştırmacılar tek nükleotid polimorfizmi çalışmaktansa iki locus haplotip analizi yapmanın daha anlamlı olacağını söylemektedirler⁵¹.

Bizim çalışmamızda plazma IL-4 düzeyleri bakımından kronik ürtikerli hastalar ile kontroller arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı. Caproni ve arkadaşları yaptıkları çalışmada kronik ürtikerli hastalarda Th1 ve Th2 hücre yanıtlarını ortaya koymak amacı ile IFN- γ , IL-4 ve IL-13 düzeylerine bakmışlar. IL-13 düzeyleri hasta grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunurken, IL-4 ve IFN- γ açısından farklılık bulunamamıştır⁵⁵. Bizim çalışmamız Caproni ve arkadaşlarını yaptığı çalışmayı destekliyordu. Cohen ve ark. ise yaptıkları çalışmada kronik ürtikerli hastaların periferik kanlarında, mononükleer hücreleri stimüle ederek, hastalardaki IL-4 düzeylerini ölçmüşlerdir. Bu çalışmada kronik ürtikerli hastalarda IL-4 salınımını oldukça düşük bulunmuştur⁵⁶. Ying ve ark. yaptığı çalışmada ise yukarıdaki araştırmaların aksine kronik ürtikerli hastalardan alınan cilt biyopsi materyallerinde IL-4 eksprese eden mRNA düzeylerinde kontrollere oranla belirgin bir artış olduğunu gözlemişlerdir⁵⁷. Yapılan çalışmalarda mRNA düzeylerinde artış olup, IL-4 düzeylerinin artmamasının nedeni sitokinlerin yarılanma ömürlerinin oldukça kısa olmasından ve otokrin-parakrin etkilerine bağlı olarak hızlı bir şekilde tüketilmelerinden kaynaklanıyor olabilir. Bu ise hasta ve kontrollerin serum IL-4 düzeylerinin birbirine benzer düzeylerde çıkmasını açıklayabilir⁵⁵.

Bu çalışmada sitokin düzeyleri ile Q576R polimorfizm sıklığı arasında hem hastalar, hem de kontroller bakımından anlamlı bir ilişki bulunamadı. Qiao ve arkadaşları da yaptıkları çalışmada penisilin allerjisi olan hastalarda IL-4 R α Q576R ve C589T polimorfizmlerine ve IL-4 düzeyleri ile ilişkisine bakmışlar. Bizim bulgularımızı destekleyecek şekilde, her iki polimorfizmde IL-4 düzeyleri ile ilişkisiz olduğu sonucuna varmışlardır⁵⁸.

Ürtikerli hasta grubuna bir H1 histaminik reseptör blokörü olan desloratadin tedavisi uygulandı. Tedavi bitiminde hastalarda IL-4 düzeyleri

ölçümü yapıldı. Buna göre tedavi öncesi ve tedavi sonrası IL-4 düzeyleri arasında farklılık olup olmadığı araştırıldı. Tedavi sonrası IL-4 düzeylerinde bir düşme gözlemlendi, ancak bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Agrawal yaptığı çalışmada desloratadinin stimüle olmuş hücrelerden, IL-4 ve IL-13 salınımını, histamin ve LTC4 salınımına oranla, yaklaşık olarak 6 kat daha fazla inhibe ettiğini göstermiştir. Desloratadinin aynı zamanda IL-4 mRNA ekspresyonunu da azalttığı tespit edilmiştir⁴⁶. Schroeder ve arkadaşlarının desloratadinin in vitro koşullarda insan bazofillerinden IL-4 ve IL-13 üretimi ve mediyatör salınımı üzerine etkilerini araştırdıkları çalışmada solüsyon içinde bulunan bazofiller, çeşitli şekillerde uyarılarak histamin, LTC4 ve IL-4 düzeylerine ve IL-4 mRNA ekspresyonuna bakılmış. Anti-IgE antikoru ile uyarılan hücrelerde desloratadinin IL-4 ve IL-13 sekresyonunu inhibe edici etkilerinin, histamin ve LTC4 salınımını inhibe edici etkilerinden yaklaşık olarak 6-7 kat daha fazla olduğunu ileri sürmüşlerdir. İonomisin ile uyarılan hücrelerde ise sitokin ve LTC4 inhibisyonu benzer şekilde olurken, aynı etkiyi histamin üzerinde gözlemediklerini bildirmişlerdir. Bu çalışmada desloratadinin hücrelerin ortamda bulunmasını azaltarak etki ettiği yönünde herhangi bir bulgu elde edilememiştir. Agrawal'ın yaptığı çalışmadan elde edilen sonuçlarda olduğu gibi desloratadin tedavisinin IL-4 mRNA düzeylerini belirgin oranda azaltmış olabileceği sonucuna varmışlardır. Desloratadin her ne kadar histamin ve LTC4 inhibisyonu yapabilse de, IL-4 ve IL-13 sentezini düzenleyen sinyaller üzerinde olan etkileri çok daha belirgindir. Sitokin üretimi üzerindeki bu inhibitör etkiler bu antihistaminik ajanın antiinflamatuvar etkilerinin de ortaya konulma gerekliliğini doğrulamaktadır⁵⁹. Bu çalışmada IL-4 düzeylerindeki azalmanın anlamlı olmama nedeni desloratadinin etkilerinin doza bağımlı olarak ortaya çıkması olabilir⁵⁹. Doza bağımlı etki dışında sitokinlerin dolaşımdan hızlı temizlenmesi de bu bulgulara yol açmış olabilir. Değişen dozlarda desloratadin verilen ürtikerli hastalarda dolaşımdaki IL-4 düzeyleri yerine IL-4, mRNA düzeylerinin ölçülmesi daha faydalı bilgiler sağlayabilir. Biz çalışmamızda desloratadinin klinik olarak kaşıntı, uyku düzeni, günlük aktiviteler üzerine olumlu etkisine karşın, tedavi sonrası IL-4 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı olmasa da azalmaya yol açtığını gözledik. Örnek sayısı artırılarak yapılacak olan çalışmalarda IL-4 düzeylerindeki anlamlı düşüşler bulunabilir.

Çalışmada son olarak hastaların genotipleri ile hastaların semptomlarının şiddeti arasında bağlantı olup olmadığı ve tedavinin farklı genotipler üzerindeki etkinliğinin farklı olup olmadığını araştırıldı. QQ, QR ya da RR genotipe sahip olmanın kronik ürtikerli hastalarda semptom şiddeti ya da tedavi etkinliği ile anlamlı bir ilişkisi bulunmamaktaydı. RR genotipini sadece hasta popülasyonunda saptadık. İstatistiksel olarak anlamlı olmasa da RR genotipine sahip olmanın kronik ürtiker için risk faktörü olabileceği ve tedavi etkinliğinde azalmaya neden olabileceği düşünülebilir. Bunu geniş serilerde yapılacak yeni çalışmaların gösterebileceğini düşünebiliriz.

6.SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Hasta ve kontrol gruplarında Q576R ya da normal genotipe sahip olma bakımından anlamlı bir farklılık bulunamadı. Çalışılan populasyonda bu mutasyona sahip olmanın, kronik ürtiker gelişimi ile bağlantısı olmadığı sonucuna varıldı.Kontrol grubunda RR genotipine rastlanmazken hasta grubunun 4'ünde RR genotipinin varlığı gözlemlendi.
2. RR genotipi ve kronik ürtiker ilişkisini ortaya koyabilmek için daha fazla sayıda olguya ihtiyaç duyuldu.
3. IL-4 düzeyleri bakımından kronik ürtikerli hastalar ile kontroller arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı. Aynı şekilde hasta grubunda desloratadin tedavisi öncesi ve sonrası IL-4 düzeyleri arasında da farklılık yoktu.
4. IL-4 düzeyleri-kronik ürtiker ve IL-4 düzeyleri-desloratadin tedavisi üzerine yapılan çalışmalarda anlamlı ilişki bulan araştırmacı grupları olduğu gibi herhangi bir farklılık bulamadığını belirten gruplar da vardır. IL-4 diğer sitokinlerde de olduğu gibi çok düşük miktarlarda salınmakta ve çok hızlı bir biçimde yıkılmaktadır. Bundan dolayı IL-4 düzey tayini yapmaktansa IL-4 mRNA doku düzeylerinin ölçülmesi ile farklı sonuçlar ortaya çıkabilir.
5. Hastaların genotipleri ile hastaların semptomlarının şiddeti arasında bağlantı olup olmadığı ve tedavinin farklı genotipler üzerindeki etkinliği arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı.
6. IL-4 reseptöründe tanımlanmış olan yaklaşık 13 adet mutasyon bulunmakta. Tek nükleotid polimorfizmi çalışmaktansa çoklu polimorfizmleri bir arada çalışıp hastalık ile ilişkilerini araştırmak daha anlamlı sonuçlar ortaya çıkarabilir.
7. Tüm bunlara klinik bir perspektiften bakıldığında kronik ürtikerin multifaktoriyel bir problem olduğu ve olayları başlatıcı sebepler kadar alevlendiren faktörlerin de üzerinde araştırma yapılmasının gerekliliği göz önünde bulundurulmalıdır.

7. KAYNAKLAR

1. Kozel MMA, Sabroe RA. Chronic Urticaria: Aetiology, Management and Current and Future Treatment Options. *Drugs*. 2004; 64: 2515-2536.
2. Harada S. Clinical Feature and Treatment Of Urticaria. *J Environ Dermatol*. 2005; 12: 19-28.
3. Akdis M, Blaser K, Akdis CA. T Regulatory Cells In Allergy: Novel Concepts Inthe Pathogenesis, Prevention, and Treatment of Allergic Diseases. *J Allergy Clin Immunol*. 2005; 116: 961-968.
4. Karp MW. the Gene Encoding Interleukin-13: A Susceptibility Locus For Asthma and Related Traits. *Respir Res*. 2000; 1:19–23.
5. Hackstein H, Hofmann H, Bohnert A, Bein G. Definition Of Human Interleukin-4 Receptor Alpha Chain Haplotypes and Allelic Association With Atopy Markers. *Human Immunology*. 1999; 60: 1119–1127.
6. Ortonne JP. Chronic Idiopathic Urticaria For The Generalist. *European Journal Of Internal Medicine*. 2003; 14: 148–157.
7. Grattan CEH, Black AK. Urticaria and angioedema. In: Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP eds. *Dermatology*. 1th ed. Edinbrough. Mosby, 2003: 287-303.
8. Grattan CEH, Black AK. Urticaria and Mastocytosis. In: Burns T, Breathnach S, Cox N, Griffiths C. *Rook's Textbook of Dermatology*. 7th ed. USA: Blackwell Publishing, 2004: 47.1-47.37.
9. Grattan CEH, Sabroe RA, Greaves MW. Chronic Urticaria. *J Am Acad Dermatol*. 2002; 46: 645-660.
10. Jensen CB, Finzi A, Greaves M, Camarasa J, Ortonne JP, Schöpf E, Tennstedt D. Chronic Urticaria: Diagnostic Recommendations. *Jeadv*. 2000; 14: 175–180.
11. Zuberbier T. Urticaria. *Allergy* 2003; 58: 1224–1234.
12. Kaplan AP. Chronic Urticaria: Pathogenesis and Treatment. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;114: 465-474.
13. Reimers A, Pichler C, Helbling A, Pichler WJ, Yawalkar N. Zafirlukast Has No Beneficial Effects In The Treatment Of Chronic Urticaria. *Clin Exp Allergy*. 2002; 32: 1763-1768.

14. Ring J, Hein R, Gauger A. Desloratadine In the Treatment Of Chronic Idiopathic Urticaria. *Allergy*. 2001; 56: 28-32.
15. Mitchell RN, Kumar V. İmmün Bozukluklar. Çevikbaş U editörlüğünde. *Robbins Temel Patoloji*. 7nci ed. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2003: 103-164.
16. Marone G, Spadaro G, Palumbo C, Condorelli G. The anti-IgE/anti-FcεRI α autoantibody network in allergic and autoimmune diseases. *Clinical and Experimental Allergy*. 1999; 29: 17-27.
17. Mills TP. Hypersensitivity-Type 1. In: Roitt I, Brostoff J, Male D eds. *Immunology*. 6th ed. London: Elsevier Science Limited, 2002: 323-343.
18. Rosa MS, Pinto AM. Cytokines. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 4th ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2006: 645-745.
19. Whitley RJ. Hormonlar. Aslan D editörlüğünde. *Tietz Klinik Kimyada Temel İlkeler*. 5th ed. Ankara: Palme Yayıncılık, 2005: 518-528.
20. Arslan D. Hücre Döngüsü, Büyümesi ve Proliferasyonu, Onkogenler. Onat T, Emerk K, Sözmen EY editörlüğünde. *İnsan Biyokimyası*. 1th ed. Ankara: Palme Yayıncılık, 2002: 548-569.
21. Pyo CW, Hur SS, Kim YK, Choi HB, Hong YS, Kim DW, Kim CC, Kim HK, Kim TG. Polymorphisms Of IL-1B, IL-1RN, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, and IFN-γ Genes In the Korean Population. *Human Immunology*. 2003;64: 979–989.
22. Erişim:
http://www.umdj.edu/pathnweb/genpath/lec_1/Class_I_Cytokine_Receptors/Class_I.
23. Erişim: www.umdj.edu/.../Class_II/class_ii.htm.
24. Söderhall C, Bradley M, Kockum I, Luthman H, Wahlgren CF, Nordenskjöld M. Analysis Of Association and Linkage For the Interleukin-4 and Interleukin-4 Receptor α Regions In Swedish Atopic Dermatitis Families. *Clin Exp Allergy*. 2002; 32: 1199-1202.
25. Yamagata T, Ichinose M. Agents Against Cytokine Synthesis Or Receptors. *European Journal Of Pharmacology*. 2006; 533: 289–301.

26. Mueller TD, Zhang JL, Sebald W, Duschl A. Structure, Binding, and Antagonists In the IL-4/IL-13 Receptor System. *Biochimica Et Biophysica Acta*. 2002; 1592: 237– 250.
27. Pan PY, Rothman P. IL-4 Receptor Mutations. *Current Opinion In Immunology*. 1999; 11: 615–620.
28. Koppelman GH, Meijer GG, Bleecker ER, Postma DS. The Genetics Of Asthma. *Asthma*. 4th ed. London: Arnold. 2000: 146-147.
29. Deichmann K, Bardutzky J, Forster J, Heinzmann A, Kuehr J. Common Polymorphisms In the Coding Part Of the IL-4 Receptor Gene. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1997; 231: 696–697.
30. Lee SG, Kim BS, Kim JH, Lee SY, Choi SO, Shim JY, Hong TJ, Hong SJ. Gene–Gene Interaction Between Interleukin-4 and Interleukin-4 Receptor α In Korean Children With Asthma. *Clin Exp Allergy*. 2004.
31. Risma KA, Wang N, Andrews RP, Cunningham CM, Ericksen MB, Bernstein JA, Chakraborty R, Hershey GKK. V75R576 IL-4 Receptor α Is Associated With Allergic Asthma and Enhanced IL-4 Receptor Function. *the Journal Of Immunology*. 2002; 169: 1604-1610.
32. Kruse S, Forster J, Kuehr J, Deichmann KA. Characterization Of the Membrane-Bound and A Soluble Form Of Human IL-4 Receptor α Produced By Alternative Splicing. *International Immunology*. 1999; 11: 1965-1969.
33. Kauppi P. *Asthma Candidate Genes In the Finnish Population*. Helsinki. 2001.
34. Kruse S, Japha T, Tender M, Sparholt SH, Forster J, Kuehr J, Deichmann KA. the Polymorphisms S503P and Q576R In the Interleukin-4 Receptor α Gene Are Associated With Atopy and Influence the Signal Transduction. *Immunology*. 1999; 96: 365-371.
35. Foster PS, Moczygemba MM, Huston DP, Corry DB. Interleukins-4, -5, and -13: Emerging Therapeutic Targets In Allergic Disease. *Pharmacology & Therapeutics*. 2002; 94: 253– 264.
36. Suzuki I, Hizawa N, Yamaguchi E, Kawakami Y. Association Between A C133t Polymorphism In the IL-4 Promoter Region and Total Serum IgE Levels. *Clinical and Experimental Allergy*. 2000; 30: 1746-1749.

37. Migliaccio C, Patuzzo C, Malerba G, Trabetti, Galavotti, Pescollderung, Boner AL, Pignatti PF. No Linkage Or Association Of Five Polymorphisms In the Interleukin-4 Receptor α Gene With Atopic Asthma In Italian Families. *European Journal Of Immunogenetics*. 2003; 30: 349–353.
38. Beghe B, Barton S, Rorke S, Peng Q, Sayers I, Gaunt T, Keith TP, Clough JB, Holgate ST, Holloway JW. Polymorphisms In the Interleukin-4 and Interleukin-4 Receptor α Chain Genes Confer Susceptibility To Asthma and Atopy In A Caucasian Population. *Clin Exp Allergy*. 2003; 33:1111–1117.
39. Noguchi E, Shibasaki M, Arinami T, Takeda K, Yokouchi Y, Kobayashi K, Imoto N, Nakahara S, Matsui A, Hamaguchi H. Lack Of Association Of Atopy/Asthma and the Interleukin-4 Receptor α Gene In Japanese. *Clinical and Experimental Allergy*. 1999;29: 228–233.
40. Wang HY, Shelburne CP, Zamorano J, Kelly AE, Ryan JJ, Keegan AD. Cutting Edge: Effects Of An Allergy- Associated Mutation In the Human IL-4 R α (Q576R) On Human IL-4-Induced Signal Transduction. *The American Association Of Immunologists*. 1999. 4385-4389.
41. Belmont JW, Puck JM. T Cell and Combined Immunodeficiency Disorders. In: Scriver RS, Beaudet AL, William SS, Vale D eds. *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Diseases*. 8th ed. USA: Mc Graw Hill, 2001: 4751-4784.
42. Hackstein H, Klüter H, Fricke L, Hoyer J, Bein G. the IL-4 Receptor α -Chain Variant Q576R Is Strongly Associated With Decreased Kidney Allograft Survival. *Tissue Antigens*. 1999; 54: 471–477.
43. Paraskevas F. Effector Mechanisms in Immunity. In: Greer JP, Foerster J, Lukens JN, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B. eds. *Wintrobe's Clinical Hematology*. 11th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2004: 527-604.
44. Lopez KIM, Martinez SEF, Zepeda RR, Ramos SAC, Aguilar AG, Perez JG, Corona JS. Association Analysis Of Polymorphisms In the Interleukin-4 Receptor (Alpha) Gene With Atopic Asthma In Patients From Western Mexico. *European Journal Of Immunogenetics*. 2002; 29: 375-378.

45. Nicholas A, Johnston C, Johnston JA. Interleukin-2 Signaling and Inherited Immunodeficiency. *Am. J. Hum. Genet.* 1999; 65: 287-293.
46. Agrawal DK. Anti-Inflammatory Properties Of Desloratadine. *Clin Exp Allergy* 2004; 34:1342–1348.
47. Hershey GK, Friedrich MF, Esswein LA, Thomas ML, Chatila TA. The association of atopy with a gain-of-function mutation in the alpha subunit of the interleukin-4 receptor. *N Engl JMed* 1997; 337:1720–5.
48. Garcia MI, Davila I, Laffond E, Moreno E, Lorente F, Sarmiento RG. Interleukin-4 (IL-4) and Interleukin-4 Receptor (IL-4 R α) Polymorphisms In Asthma: A Case Control Study. *Clinical and Molecular Allergy.* 2005; 3: 1-7.
49. Howard TD, Koppelman GH, Xu J, Zheng SL, Postma DS, Meyers DA, Bleecker ER. Gene-Gene Interaction In Asthma: IL-4 R α and IL-13 In A Dutch Population With Asthma. *Am. J. Hum. Genet.* 2002; 70 :230–236.
50. Haagerup A, Bjerke T, Schiotz PO, Dahl R, Binderup HG, Kruse TA. No Linkage and Association Of Atopy To Chromosome 16 Including the Interleukin-4 Receptor Gene. *Allergy* 2001; 56: 775-779.
51. Bottini N, Borgiani P, Otsu A, Saccuni P, Stefanini L, Greco E, Fontana L, Hopkin JM, Mao XQ, Shirakawa T. IL-4 Receptor Alpha Chain Genetic Polymorphism and Total IgE Levels In the English Population: Two-Locus Haplotypes Are More Informative Than Individual SNPs. *Clin Genet* 2002; 61: 288–292.
52. Tanaka K, Roberts MH, Yamamoto N, Sugiura H, Uehara M, Mao XQ, Shirakawa T, Hopkin JM. Genetic Variants Of the Receptors For Thromboxane A₂ and IL-4 In Atopic Dermatitis. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 2002; 292: 776–780.
53. Mitsuyasu H, Izuhara K, Mao XQ, Gao PS, Arinobu Y, Enomoto T, Kawai M, Sasaki S, Dake Y, Hamasaki N, Shirakawa T, Hopkin JM. Ile50val Variant Of IL-4 R α Upregulates IgE Synthesis and Associates With Atopic Asthma. 1998; 19: 119-120.
54. Wjst M, Kruse S, Illig T, Deichmann K. Asthma and IL-4 Receptor Alpha Gene Variants. *European Journal Of Immunogenetics.* 2002; 29: 263–268.

55. Caproni M, Cardinali C, Giomi B, Antiga E, Fabbri P. Serological Detection Of Eotaxin, IL-4, IL-13, Ifn- Γ , Mip-1a, Tarc and Ip-10 In Chronic Autoimmune Urticaria and Chronic Idiopathic Urticaria. *Journal Of Dermatological Science*. 2004; 36: 57-59.
56. Cohen RC, Goldberg A, Aharoni D, Naiman L, Buchs A, Weiss M, Weissgarten J, Rapoport MJ. Low Stimulated IL-4 Secretion In Pbmcs From Patients With Chronic Idiopathic Urticaria. *Cytokine*. 2004; 27: 74-80.
57. Ying S, Kikuchi Y, Meng Q, Kay AB, Kaplan AP. Th1/Th2 Cytokines and Inflammatory Cells In Skin Biopsy Specimens From Patients With Chronic Idiopathic Urticaria: Comparison With the Allergeninduced Late-Phase Cutaneous Reaction. *J Allergy Clin Immunol*. 2002;109: 694-700.
58. Qiao HL, Yang J, Zhang YW. Relationships Between Specific Serum IgE, Cytokines and Polymorphisms In the IL-4, IL-4R α In Patients With Penicillins Allergy. *Allergy*. 2005; 60: 1053–1059.
59. Schroeder JT, Schleimer RP, Lichtenstein LM, Kreutner W. Inhibition Of Cytokine Generation and Mediator Release By Human Basophils Treated With Desloratadine. *Clinical and Experimental Allergy*. 2001; 31: 1369-1377.

8. SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

IgE	İmmünoglobülin E
FcεRI	Yüksek affiniteli IgE reseptörü
IL-4	İnterlökin-4
Th	Yardımcı T hücreleri
MHC	Major histokompatibilite kompleksi
mRNA	Ribonükleik asit
JAK/STAT	Janus kinaz-Sinyal aktive edici ve ileticileri
IFN	İnterferon
EDTA	Etilendiaminotetraenoik asit
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksi nükleotit trifosfat
FRET	Floresans rezonans enerji transferi
Tm	Erime ısısı
G	Guanin
C	Sitozin
ELISA	Enzyme linked immuno sorbant assay

9. ŞEKİLLER VE RESİMLER DİZİNİ

Şekiller	Sayfa No
Şekil 1 (İnsan mast hücresi ve bazofillerinin IgE-FcĒRI ağı üzerinden immünolojik aktivasyonunun Şematik görünümü).....	14
Şekil 2 (Mast hücrelerinin immünolojik ve nonimmünolojik uyarılar ile oluşan degranülasyonu)	15
Şekil 3 (Klas 1 sitokin reseptörü)	20
Şekil 4 (Klas 2 sitokin reseptörü)	21
Şekil 5 (IL-4'ün yapısal görünümü)	22
Şekil 6 (IL-4 reseptör sinyalizasyonu)	24
Şekil 7 (Loratadin ve desloratadin molekülleri).....	25
Şekil 8 (IL-4 R α Q576R için melting curve analizi grafiği)	33

10. TABLOLAR DİZİNİ

Tablolar	Sayfa No
Tablo 1 (Tablo 1: Ürtikerin klinik sınıflaması).....	10
Tablo 2 (Sitokin yapılarının sınıflandırılması).....	18
Tablo 3 (High pure PCR template kit içeriği)	28
Tablo 4 (IL-4 R Q576R polimorfizmi lightcycler, Genes-4U kit içeriği).....	31
Tablo 5 (Örnek başına kullanılan IL-4 R Q576R toolset for lightcycler, genes-4U kit içeriği miktarları)	31
Tablo 6 (QQ, QR ve RR polimorfizmlerinin hasta ve kontrol gruplarında dağılımı).....	34
Tablo 7 (Hasta ve kontrol gruplarında tedavi öncesi IL-4 düzeyleri)	34
Tablo 8 (Hasta grubunda tedavi öncesi ve sonrası IL-4 düzeyleri).....	35
Tablo 9 (QQ veya QR genotipe sahip olmanın tedavi öncesi ve sonrası kaşıntı skorları üzerine etkisi)	35
Tablo 10 (QQ veya QR genotipe sahip olmanın tedavi öncesi ve sonrası uyku düzeni üzerine etkisi).....	36
Tablo 11 (QQ veya QR genotipe sahip olmanın tedavi öncesi ve sonrası günlük aktiviteler üzerine etkisi).....	36

11. EKLER

EK 1: Aydınlatılmış Onam Formu

AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU

Araştırmayı Yürüten Doktorun Beyanı:

Kronik İdiyopatik Ürtikerli hastalarda ortaya çıkan bulguların oluşumunda rolü olan bazı genetik faktörlerin saptanması amacıyla yeni bir araştırma yapmaktayız. Araştırmanın ismi 'KRONİK ÜRTİKERLİ HASTALARDA IL-4 R α Q576R POLİMORFİK YAPISININ SIKLIĞI' dır. Bu çalışmaya 100 hasta, 100 sağlıklı bireyden oluşan toplam 200 kişi katılacaktır.

Sizin de bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Ancak hemen söyleyelim ki bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Araştırmaya davet edilmenizin nedeni Kronik Ürtiker hastalığı öykünüzün bulunmasıdır. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dermatoloji Anabilim Dalı ve Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı ortak katılımı ile bu hastalığın nedenlerini ortaya çıkaracak bir araştırma gerçekleştirilecektir.

Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz sizinle ilgilenen Dermatoloji Anabilim Dalı doktorları tarafından hastalığınızla ve sizinle ilgili bazı kayıtlar tutulacaktır. Bu kayıtlar ilerde tekrar incelenerek, doğru tanı konulmasına yardımcı olacaktır. Bu kayıtlar kimliğiniz belirtilmeden tıp öğrencilerinin eğitiminde veya bilimsel nitelikte yayınlarda kullanılabilir. Bu amaçların dışında bu kayıtlar kullanılmayacak ve başkalarına verilmeyecektir.

Bu çalışmayı yapabilmek için kolunuzdan 5-10 ml. (1 hemogram tüpü ve 1 tüp düz kan) kadar kan almamız gerekmektedir. Bu kandan, IL-4 ve eozinofil katyonik protein düzeyi bakılacak ve genetik materyal DNA, elde edilecektir. Bu aşamada başarısız olduğunda bir kez daha kan vermeniz istenebilir.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır.

Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler:

1-) İğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyabilirsiniz.

2-) Az bir ihtimal de olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması veya enfeksiyon riski vardır.

Bu araştırma için bunların dışında invaziv girişim yapılmayacaktır. Bunun dışında uygulanabilecek işlemler araştırma ile ilgili olmayacaktır. Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığınızda; herhangi bir saatte, Dr. Neslihan ERÇETİN'i, 3374300 (1530) no'lu telefondan ve Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'ndan arayabilirsiniz. Çalışmada elde ettiğimiz test sonuçlarınızda gizlilik ilkesine bağlı kalınacaktır.

Yukarıda sayılanlar böylesi bir analizde yaşanabilecek potansiyel risklerdir. Ancak bunlardan en az oranda zarar görmeyi sağlamak için elimizden geleni yapacağız. Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek sorun ve riskler katılımcının/hastanın kendisine ya da ebeveyni/sorumlusuna iletilecektir.

Yapılacak genetik testin getireceği olası yararlar:

Böyle bir analiz sayesinde Kronik Ürtiker bulgularının şiddetinin oluşumunda etkili olan genetik faktörler hakkında bilgi sahibi olabileceğiz ve tedavisinde daha etkili yöntemler uygulayabileceğiz. Şu anda bu çalışmanın hemen size bir fayda olarak dönüp dönmeyeceğini bilmiyoruz. Ancak ilgili hastalığın temelinde yatan nedenlerin öğrenilmesi ileride ilgili hastalıktan etkilenmiş bireylere fayda sağlayacaktır.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahipsiniz. Ayrıca kendi rızanıza bakılmaksızın araştırmacı tarafından araştırma harici bırakılabiliyorsunuz.

Yukarıdaki gönüllü araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Gönüllünün:

Adı Soyadı:

İmzası:

Adresi(varsa telefon no, faks no):

Açıklamaları yapan araştırmacının:

Adı Soyadı:

İmzası:

Ek 2: Hasta Takip Formu

Kronik İdiyopatik Ürtiker Araştırma Formu

Ad-Soyad:

Tarih:

Yaş:

Dosya No:

Cinsiyet:

Hastalık öyküsü:

Aile hikayesi:

Hastalık süresi:

Aldığı tedaviler:

Atopi ve allerji öyküsü:

Tel:

Adres:

Hasta

Kontrol

Klinik Skorlama						
	0.gün		20.gün		40.gün	
Desloratadin						
Plak sayısı						
En geniş plak çapı						
Kaşıntı	0	Yok	0	Yok	0	Yok
	1	Hafif	1	Hafif	1	Hafif
	2	Orta	2	Orta	2	Orta
	3	Şiddetli	3	Şiddetli	3	Şiddetli
Uyku üzerine etkisi	0	Yok	0	Yok	0	Yok
	1	Hafif	1	Hafif	1	Hafif
	2	Orta	2	Orta	2	Orta
	3	Şiddetli	3	Şiddetli	3	Şiddetli
Günlük aktiviteler üzerine etkisi	0	Yok	0	Yok	0	Yok
	1	Hafif	1	Hafif	1	Hafif
	2	Orta	2	Orta	2	Orta
	3	Şiddetli	3	Şiddetli	3	Şiddetli

Ek 3: IL-4 R Q576R Polimorfizmi PCR protokolü

Denatürasyon

Siklus	1
Hedef sıcaklık(C ⁰)	95
İnkübasyon süresi(sn)	60
Sıcaklık değişim oranı(C ⁰ /sn)	20

Amplifikasyon

Siklus	50			
	Segment 1	Segment 2	Segment 3	
Hedef sıcaklık(C ⁰)	95	58	72	
İnkübasyon süresi(sn)	0	10	10	
Sıcaklık değişim oranı(C ⁰ /sn)	20	20	20	

Melting Curve analizi

Siklus	1			
	Segment 1	Segment 2	Segment 3	
Hedef sıcaklık(C ⁰)	95	45	85	
İnkübasyon süresi(sn)	0	30	0	
Sıcaklık değişim oranı(C ⁰ /sn)	20	20	0.2	

Cooling

Siklus	1
Hedef sıcaklık(C ⁰)	40
İnkübasyon süresi(sn)	30
Sıcaklık değişim oranı(C ⁰ /sn)	20

