

**T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**ÇOCUKLUK ÇAĞI ASTIMI İLE VİTAMİN D DÜZEYİ VE  
VİTAMİN D RESEPTÖR GEN POLİMORFİZMİ  
ARASINDAKİ İLİŞKİ**

**UZMANLIK TEZİ  
Sema ECİN BARAN**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Mehmet KILIÇ**

**ELAZIĞ  
2014**

## DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

**DEKAN**

Bu tez uzmanlık tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Erdal YILMAZ

**Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi**

**Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı**

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden “Uzmanlık Tezi” olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Mehmet KILIÇ

\_\_\_\_\_

**Danışman**

**Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Allerji ve İmmünoloji Bilim Dalı**

**Uzmanlık Tezi Değerlendirme Jüri Üyeleri**

..... \_\_\_\_\_  
..... \_\_\_\_\_  
..... \_\_\_\_\_  
..... \_\_\_\_\_  
..... \_\_\_\_\_

## TEŞEKKÜR

Bu tezin hazırlanmasında bana yol gösteren, bilgi ve tecrübesi ile eğitimime büyük katkıda bulunan, sabrı ve hoşgörüsü nedeniyle kendisine minnettar olduğum değerli tez hocam Doç. Dr. Mehmet KILIÇ'a,

Tüm bilgi birikimlerini hiçbir karşılık beklemeden benimle paylaşan ve beni evlatları kabul eden başta Prof. Dr. Erdal YILMAZ olmak üzere tüm saygı değer hocalarıma,

Tezimin hazırlanmasında ilgi ve desteklerini benden esirgemeyen Genetik A.B.D.'daki sevgili hocalarım Yrd. Doç. Dr. Deniz EROL ve Yrd. Doç. Dr. Ebru ÖNALAN'a,

Dünyaya gelmeme vesile olan ve insanlara hizmet etmenin kutsallığını kendilerinden öğrendiğim canım aileme, iyisiyle kötüsüyle sıkıntılarımı sıkıntıları sayan, sıkıntılarını da sıkıntım saydığım tüm doktor arkadaşlarıma, onlar olmadan insanlara hizmetin kesinlikle mümkün olmayacağı sağlık personeli ve diğer çalışan arkadaşlarıma,

Sonsuz teşekkür ederim...

## ÖZET

Astım çocukluk çağı kronik hastalıklarının en sık görülenidir ve büyük ölçüde genetik faktörlerle ilişkilidir. Vitamin D ve nükleer reseptörü (VDR), genetik ve immünolojik olarak astım ile bağlantılıdır. VDR'deki polimorfizmler vitamin D'nin aktivitesini değiştirebilir ve daha sonra astım gelişimini etkileyebilir.

Bu çalışmada, çocukluk çağı astımı ile serum vitamin D düzeyi ve VDR gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi göstererek astım hastalarının tanı ve tedavi yaklaşımına yeni bir bakış açısı kazandırmak amaçlandı.

Çalışmaya 5-18 yaş arası 60 astımlı çocuk ve 40 sağlıklı kontrol grubu katılmıştır. Hasta grubu alerjik ve nonallerjik olarak iki gruba ayrılmıştır. Serum 25 hidroksi vitamin D seviyesi, endonükleaz Apa1, Taq1 ve Fok1 kullanılarak PCR-RFLP yöntemi ile VDR genotipleri, Real Time PCR yöntemi ile VDR mRNA düzeyleri belirlenmiştir. Vitamin D, VDR genotipleri ve VDR mRNA hasta ve kontrol grupları arasında ve kendi aralarında karşılaştırılmıştır.

Astımlı hastalar ile sağlıklı çocuklar arasında serum vitamin D düzeyinde anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. VDR Taq1 polimorfizmi ve astım arasında anlamlı bir ilişki varken, Apa1 ve Fok1 polimorfizmi açısından anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. VDR SNP'leri ile vitamin D düzeyi arasında anlamlı bir ilişki yoktu. Astımlı hastalarda VDR mRNA ekspresyonunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artış belirlenmiştir.

Daha geniş hasta grupları ile yapılacak gelecek çalışmalar, astım ve atopiye, bu ve diğer genlerin katkısını ve astımlı hastalarda önleyici ve/veya tedavi edici müdahaleleri anlamamızı sağlayacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** Astım, vitamin D, VDR gen polimorfizmi.

## ABSTRACT

### THE RELATIONSHIP BETWEEN THE LEVEL OF VITAMIN D AND VITAMIN D RECEPTOR GENE POLYMORPHISM IN CHILDHOOD ASTHMA

Asthma is the most common chronic disease of childhood and is in large part attributable to genetic factors. Vitamin D and its nuclear receptor (VDR) are linked to asthma in a genetic and immunologic basis. Polymorphisms in the VDR gene may alter the actions of vitamin D and then influence the development of asthma.

In this study, the associations of serum vitamin D levels and VDR gene polymorphisms with childhood asthma were evaluated. We aim at to gain a new perspective of diagnosis and treatment of asthma patients, showing this relationship.

The study was conducted on 60 asthmatic children and 40 healthy controls aged 5-18 years. The patient group was divided into two groups of allergic and nonallergic. Serum 25 hydroxy vitamin D levels were assessed, VDR genotypes were determined by PCR-RFLP method using endonuclease Apa1, Taq1 and Fok1, VDR mRNA levels were determined by Real Time PCR method. Vitamin D, VDR genotypes and VDR mRNA compared between the two groups and with each other.

In relation to serum vitamin D levels, a significant difference was not observed between asthmatic patients and healthy children. We reported a significant association between VDR Taq1 polymorphisms and asthma. No significant differences was found in the distribution of genotypes and alleles frequencies between patients and controls for the Apa1 and Fok1 polymorphisms. No association was found between VDR SNPs and serum vitamin D levels. There was significantly increased expression of VDR mRNA in asthmatics compared to controls.

Further studies with a larger sample of patients will improve our understanding of the contribution of this and other genes to asthma status and atopy and allow preventive and/or therapeutic interventions in asthmatic patients.

**Keywords:** Asthma, vitamin D, VDR gene polymorphism.

## İÇİNDEKİLER

<b>BAŞLIK SAYFASI</b>	<b>i</b>
<b>ONAY SAYFASI</b>	<b>ii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>iii</b>
<b>ÖZET</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>v</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>vi</b>
<b>TABLO LİSTESİ</b>	<b>ix</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b>	<b>x</b>
<b>KISALTMALAR LİSTESİ</b>	<b>xi</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1. Astım	2
1.1.1. Astım tanımı	2
1.1.2. Astım epidemiyolojisi	2
1.1.3. Astım etiyojisi ve risk faktörleri	2
1.1.3.1. Konağa ait faktörler	3
1.1.3.1.1. Genetik	3
1.1.3.1.2. Obezite	6
1.1.3.1.3. Cinsiyet	6
1.1.3.2. Çevresel faktörler	7
1.1.3.2.1. Allerjenler	7
1.1.3.2.2. Enfeksiyonlar	7
1.1.3.2.3. Mesleksel duyarlaştırıcılar	8
1.1.3.2.4. Sigara	8
1.1.3.2.5. Hava Kirliliği	8
1.1.3.2.6. Beslenme	8
1.1.4. Astım patogenezi	9
1.1.5. Astım tanısı	12
1.1.5.1. Anamnez	12
1.1.5.2. Prediktif Astım İndeksi	13
1.1.5.3. Fizik Muayene	15
1.1.5.4. Laboratuvar	15
1.1.5.4.1. Solunum Fonksiyon Testleri	15

1.1.5.4.2. Provokasyon testleri	17
1.1.5.4.3. Deri Testleri	17
1.1.5.4.4. Serum Total Ig E ve Allerjen Spesifik Ig E düzeyleri	18
1.1.5.4.4.1. Serum total IgE	18
1.1.5.4.4.2. Serum spesifik IgE	18
1.1.5.4.5. Fraksiyone ekshale nitrik oksit ölçümü	19
1.1.5.4.6. Diğer tetkikler	19
1.1.6. Astımın sınıflandırılması	19
1.1.6.1. İntermittan astım	20
1.1.6.2. Hafif persistan astım	20
1.1.6.3. Orta persistan astım	20
1.1.6.4. Ağır persistan astım	20
1.1.7. Astım tedavisi	23
1.1.7.1. Farmakoterapi	23
1.1.7.1.1. Semptom giderici ilaçlar	23
1.1.7.1.1.1. Kısa etkili İnhaller $\beta$ 2-agonistler	23
1.1.7.1.1.2. Antikolinergikler	24
1.1.7.1.1.3. Teofilinler	24
1.1.7.1.2. Kontrol edici ilaçlar	24
1.1.7.1.2.1. İnhale Kortikosteroidler	24
1.1.7.1.2.2. Lökotrien modifiye edici ilaçlar	25
1.1.7.1.2.3. Uzun etkili inhale $\beta$ 2 agonistler	26
1.1.7.1.2.4. Mast hücre duvarı stabilizatörleri	26
1.1.7.1.2.5. Fosfodiesteraz inhibitörleri	26
1.1.7.1.2.6. Anti-IgE antikor (omalizumab)	27
1.1.7.2. Astımlı hastalarda tedavinin izlemi	27
1.2. Vitamin D	28
1.2.1. Vitamin D Fizyolojisi	28
1.2.2. D Vitamini Durumunun Değerlendirilmesi	31
1.2.3. Vitamin D ve İmmün Sistem	32
1.2.4. Vitamin D, Allerji ve Astım	34
1.2.5. Vitamin D reseptörü	37
1.2.6. VDR Gen Polimorfizmleri	39

1.2.6.1. Fok1 Polimorfizmi	41
1.2.6.2. 3' UTR Polimorfizmleri (Bsm1, Apa1, Taq1)	42
<b>2. GEREÇ VE YÖNTEM</b>	<b>43</b>
2.1. Çalışmaya kabul kriterleri	43
2.2. Çalışma düzeni	43
2.3. Solunum fonksiyon testi	44
2.4. Deri testi (Prick testi)	44
2.5. Fraksiyone ekshale nitrik oksit ölçümü	44
2.6. Genetik Analizler	45
2.6.1. Polimorfizm Çalışma Yöntemi	45
2.7. İstatistiksel Değerlendirme	51
<b>3. BULGULAR</b>	<b>52</b>
3.1. Polimorfizm Analizleri	59
3.2. Ekspresyon analizleri	63
<b>4. TARTIŞMA</b>	<b>65</b>
<b>5. KAYNAKLAR</b>	<b>77</b>
<b>6. EKLER</b>	<b>90</b>
<b>7. ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>94</b>



## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b>	Astım Etiyolojisi ve Risk Faktörleri	3
<b>Tablo 2.</b>	Astım ve allerji ile ilişkili genler	4
<b>Tablo 3.</b>	Modifiye Prediktif Astım indeksi	13
<b>Tablo 4.</b>	Astımdan şüphe edilen veya astım tanısı almış bir kişide sorgulanması önerilenler	14
<b>Tablo 5.</b>	Tedavi Öncesinde Astımın Klinik Özellikleri Yardımıyla Şiddetine Göre Sınıflaması	21
<b>Tablo 6.</b>	Kontrol Değerlendirmesi	22
<b>Tablo 7.</b>	Çocuklarda inhale kortikosteroidlerin eşit etkin dozları	24
<b>Tablo 8.</b>	Astımda Basamak Tedavisi	28
<b>Tablo 9.</b>	Serum 25(OH)D düzeyinin değerlendirilmesi	32
<b>Tablo 10.</b>	PCR reaksiyon miksi	47
<b>Tablo 11.</b>	cDNA sentezi için master miksi	50
<b>Tablo 12.</b>	Real Time PCR Master miksi	50
<b>Tablo 13.</b>	Olguların Dermografik Özellikleri	53
<b>Tablo 14.</b>	Olguların Laboratuvar Değerleri	55
<b>Tablo 15.</b>	Olguların Solunum Fonksiyon Testi Parametreleri	56
<b>Tablo 16.</b>	Olguların Vitamin D ve FeNO Düzeyleri	58
<b>Tablo 17.</b>	Apa1, Taq1 ve Fok1 polimorfizmleri genotip ve allel sıklıklarının hasta ve kontrol grubundaki dağılımları	60
<b>Tablo 18.</b>	Alerjik ve nonallerjik hastalar arasında VDR gen polimorfizmi dağılımları	61
<b>Tablo 19.</b>	Vitamin D düzeyi ve VDR gen polimorfizmi dağılımları	62
<b>Tablo 20.</b>	Astım ve VDR gen polimorfizmi ile ilgili literatür taraması	72

## ŞEKİL LİSTESİ

<b>Şekil 1.</b>	Vitamin D metabolizması	31
<b>Şekil 2.</b>	Kromozom 12q13.1 üzerindeki VDR-COL2A1 lokusunun genomik yapısı ve 228P16 ve 1057I20 PAC klonlarının pozisyonunun detaylı fiziksel haritası	38
<b>Şekil 3.</b>	VDR protein yapısını meydana getiren fonksiyonel alanların şematik görünümü	39
<b>Şekil 4.</b>	VDR geninin exon-intron yapısı ve bilinen polimorfizmlerin pozisyonu	41
<b>Şekil 5.</b>	Vitamin D reseptör mRNA düzeyleri kat artışı	63

## KISALTMALAR LİSTESİ

<b>Ach</b>	: Asetil kolin
<b>cAMP</b>	: Siklik AMP
<b>CGRP</b>	: Kalsitonin gen bağımlı peptid
<b>CysLT1</b>	: Sisteinil lökotrien 1
<b>DH</b>	: Dendritik hücreler
<b>E</b>	: Epinefrin
<b>ECP</b>	: Eozinofil katyonik proteini
<b>FEV1</b>	: Zorlu ekspiryumda ilk saniye içinde çıkarılan hava miktarı
<b>FVC</b>	: Maksimal bir inspirasyondan sonra zorlu bir ekspirasyonla çıkarılan hava hacmi
<b>ISAAC</b>	: International Study of Asthma and Allergies in Childhood
<b>NANC</b>	: Non adrenerjik, non kolinerjik
<b>NE</b>	: Norepinefrin
<b>NHANES</b>	: Ulusal Sağlık ve Beslenme Araştırma Grubu
<b>NK</b>	: Nörokinin
<b>NO</b>	: Nitrik oksit
<b>NOS</b>	: Nitrik oksit sentetaz
<b>PEF</b>	: Ekspiratuar zirve akım hızı
<b>PHM</b>	: Peptihistidin metyoinin
<b>RSV</b>	: Respiratuar sinsisyal virüs
<b>RXR</b>	: Retinoik asit X reseptörü
<b>SNP</b>	: Tek nükleotid polimorfizmi
<b>SP</b>	: Substans P
<b>VDR</b>	: Vitamin D reseptörü
<b>VDRE</b>	: Vitamin D responsive element
<b>VİP</b>	: Vazoaktif intestinal polipeptit
<b>VitD</b>	: Vitamin D

## 1. GİRİŞ

Astım vücuttaki birçok hücre ve hücre ürününün rol oynadığı, değişik uyaranlara karşı artmış hava yolu duyarlılığı ve geri dönüşümlü hava yolu obstrüksiyonu ile karakterize kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Çocukluk çağı kronik hastalıklarının en sık görülenidir. Sağlık hizmetlerinde düzelmeler ve toplumdaki bilinçlenme bazı hastalıklarda azalmaya sebep olurken yinede bazı hastalıkların görülme sıklığında artış olmaktadır. Görülme sıklığında artış olan hastalıklardan biri de astımdır (1, 2).

Vitamin D reseptörünü eksprese eden birçok hücrenin keşfi ve yaygın vitamin D yetersizliğinin tanımlanması sonrasında, vitamin D'nin iskelet sistemi dışında da yararlı etkilerinin olabileceğini gösterdi. Vitamin D kanser, enfeksiyon, kardiyovasküler hastalıklar, şizofreni ve multipl skleroz, insülin bağımlı diyabetes mellitus, astım gibi immünite ile ilişkili hastalıklarda rol alabilir. Vitamin D ile astım arasındaki ilişki tam olarak kesinleşmiş değildir. Birçok epidemiyolojik çalışmalar sonucunda astım semptomlarının sıklığının artmasıyla vitamin D eksikliği arasında bir ilişki olduğu saptanmıştır. Buna karşın yapılan bazı çalışmalarda ise vitamin D desteğinin allerji riskini artırabileceği belirtilmiştir. Ayrıca hasta ve kontrol gruplarında vitamin D seviyelerinin farklı olmadığını bulan çalışmalar da vardır (3).

İmmün sistemdeki hücrelerin büyümesi, gelişmesi ve farklılaşmasında vitamin D nin etkisi bulunmaktadır. Vitamin D nin aktif formu olan 1,25 dihidroksi vitamin D3 (kalsitriol) bu etkilerini çekirdekteki vitamin D reseptörü (VDR) aracılığıyla yapmaktadır. Astım hastalarında inflamasyon süreci ve immünite üzerine etkili olan birçok gen bulunmuştur Astım ile ilişkili olduğu düşünülen kromozomlardan biri 12. kromozomdur. Bu kromozom üzerinde 8 intron ve 9 eksondan oluşan VDR geni de yer almaktadır. Vitamin D reseptör geninde ortaya çıkan fonksiyonel bir polimorfizm, bu genin astımla ilişkili bir gen olmasına neden olabilir (4, 5).

Bu çalışmada, çocukluk çağı astımı ile serum vitamin D düzeyi ve VDR gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi göstererek astım hastalarının tanı ve tedavi yaklaşımına yeni bir bakış açısı kazandırmak amaçlandı.

## **1.1. Astım**

### **1.1.1. Astım tanımı**

Astım birçok hücre ve hücre bileşeninin rol oynadığı kronik ve enflamatuar bir hava yolu hastalığıdır. Kronik enflamasyon, özellikle gece veya sabahın erken saatlerinde meydana gelen tekrarlayan hışıltılı solunum, nefes darlığı, göğüste sıkışma hissi ve öksürük ataklarına neden olan hava yolu aşırı duyarlılığıyla ilişkilidir. Bu ataklar genellikle akciğerlerde yaygın ama değişken ve çoğunlukla kendiliğinden veya tedaviyle geri dönüşlü bir hava yolu obstrüksiyonu ile ilişkilidir (1).

### **1.1.2. Astım epidemiyolojisi**

Astım dünyada en sık görülen kronik hastalıkların arasında yer almaktadır. Gelişmiş ülkelerde ise kronik solunum yolu hastalıkları listesinin başındadır. Dünyada yaklaşık 300 milyon astımlı olduğu ve her yıl yaklaşık 250 bin kişinin astım nedeniyle öldüğü tahmin edilmektedir (1). Ülkemizde yaklaşık 3,5 milyon kişinin astımdan etkilendiği düşünülmektedir (2). ISAAC (International Study of Asthma and Allergies in Childhood) çalışmasında astım sıklığı %1,6–36,8 arasında bildirilmiştir (6). Ülkemizdeki astım sıklığı batıda %13,7-16,4 oranları arasında iken doğuda %1,9-14,5 arasındadır (7).

### **1.1.3. Astım etiyojisi ve risk faktörleri**

Astımın etiyojisinde bulunan risk faktörleri iki ana başlık altında toplanabilir. Bunlar; hastalığın gelişmesine yol açan ve astım semptomlarını tetikleyen faktörlerdir (1, 8).

Bazı faktörler ise bunlardan her ikisine de neden olabilmektedir. Birincisi, bireye ait faktörleri, ikincisi ise çevresel faktörleri kapsamaktadır. Bununla birlikte, risk faktörlerinin astım gelişmesini ve ortaya çıkmasını sağlayan mekanizmaları karmaşıktır ve birbirleriyle etkileşim içindedir (Tablo 1) (1).

**Tablo 1.** Astım Etiyolojisi ve Risk Faktörleri

---

**KONAK FAKTÖRLERİ**

Genetik faktörler

- Atopi gelişmesine yatkınlık yaratan genler
- Hava yolu aşırı duyarlılığının gelişmesine yatkınlık yaratan genler

Obezite

Cinsiyet

**CEVRESEL FAKTÖRLER**

Allerjenler

- Ev içi: ev içi akarları, kürklü hayvanlar (köpek, kedi), hamamböceği allerjisi, mantarlar, küf, mayalar
- Ev dışı: polenler, mantarlar, küf, mayalar
- Enfeksiyonlar (özellikle viral)
- Mesleki duyarlılaştırıcılar
- Sigara dumanı
- Pasif içicilik
- Aktif içicilik

Ev dışı/ev içi hava kirliliği

Beslenme

---

**1.1.3.1. Konağa ait faktörler**

**1.1.3.1.1. Genetik**

Astım ve alerjik hastalıkların gelişiminde genetiğin rolü 100 yıldan daha fazla bir süredir bilinmektedir. Genetik özellikler tek başına ele alındığında genel olarak astım %5-10 oranında görülürken, ebeveynlerden birisinin astımlı olması durumunda bu oran % 20-30, her ikisinin astımlı olması durumunda ise % 60-70 gibi yüksek oranlara ulaşmaktadır (9, 10).

Astımda genetik geçiş oldukça karmaşık bir sürecin sonucunda olmaktadır. Çocukluklarda bu geçiş iki farklı şekilde açıklanmaktadır. Bunlardan ilki heterojen geçiştir ve burada birçok farklı gen birbirinden bağımsız olarak astıma neden olabilmektedir. İkincisi olan poligenik geçiş ise farklı genlerin içindeki polimorfizmlerin karşılıklı etkileşimi sonucu belirlenen genetik riskin, polimorfizmin tek başına oluşturduğu riskten farklı olması (epistasis) ve bireysel genetik riskin belirlenmesidir (9).

Moleküler yöntemlerde olan gelişmeler sayesinde, son yıllarda astımın genetiği ile ilgili yapılan çalışmalar oldukça artmıştır. Yaklaşık yüz kadar genin atopi ve astım fenotipi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (11).

Yapılan çalışmalar ile astım ve fenotipleri ile ilişkili olabilecek 19 kromozom belirlenmiştir. Fakat birçok araştırma grubunun üzerinde birleştiği en önemli lokalizasyonlar 2q33, 5q23-31, 6p24-21, 11q21-13, 12q24-12, 13q14-12 ve 16p olmaktadır (Tablo 2) (12).

**Tablo 2.** Astım ve allerji ile ilişkili genler

Kromozom	İlişkili genler
1p	IL-12 reseptörü, JAK1, PAF reseptörü, endotelin 2
2q	IL-1, IL-1Ra, ICOS, CTLA-4, CD28
3p24	bcl-6 (stat-6 bağlanması inhibisyonu), CCR4
5q23–q25	IL-3, IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, GM-CSF, lökotrien C4 sentetaz, makrofaj-CSF reseptör, ADRB2, GR, TIM-1, TIM-3, CD14, SPINK5
6p21–p23	MHC, TNFs, antijen işlenmesi ve sunumunu kapsayan taşıyıcılar (TAP-1 ve 2), LMP partikülleri
7q11–q14	T-hücre reseptörü, gama zincir, IL-6
10q	5-LO
11q13	Yüksek afiniteli IgE reseptörü (FcεRI)
12q14–q24	IFN-gama, IL-22, SCF, nitrik oksit sentetaz, NF-γβ (HLA genleri için transkripsiyon faktörü), ILGF-1, lökotrien A4 hidrolaz)
13q21–q24	Sisteinil lökotrien 2 reseptör
14q11–q13	T-hücre reseptörü (alfa/delta zincirleri)
16p11–p12	NF-κβ, MCC
17p12–p17	IL-4 reseptör
17q	CCL5 (RANTES)
19q13	CD22, TGF-β1
20p13	ADAM33
Xq13	IL-13 reseptör, yaygın γ chain
Xp	MAOB
Y	IL-9 reseptör

5q bölgesindeki en az 14 genin astım ve atopi ile birlikteliği bildirilmiştir. IL-4, IL-13, CD14, ADRB2, SPINK5 ve LTC4S bu genlerin en önemlileridir (11). Bunlardan IL-4 gen bölgesi olarak adlandırılan bölge, yüksek serum IgE düzeyi ile ilişkili bulunmuştur. Bakteri duvarında bulunan lipopolisakkaritler (LPS), antijen sunan hücrelerden IL-12 salınımını uyarmakta ve Th1 yanıtını güçlendirmektedir. 5. Kromozom üzerinde yerleşen CD14 molekülü güçlü bir LPS reseptörüdür ve monosit, makrofaj ve polimorfonükleer hücrelerin yüzeyinde yer alır, immun yanıtın Th1 yönüne kaymasında önemli işlevi bulunmaktadır. Bu sebeple CD14 geni astım gelişiminde önem kazanmaktadır (13).

Altıncı kromozomda yer alan Human Lökosit Antijen (HLA) sınıf-II genleri ve sIgE yanıtları arasındaki ilişki çeşitli çalışmalarda araştırılmıştır. Özel HLA tiplerinin allerjik hastalıklar veya astımın öngörülmesinde belirleyici olabileceği, atopik kişilerin farklı allerjenlere duyarlı oluşlarından yola çıkılarak düşünülmüştür. HLA D2/Dw2 haplotipi ile ambrosia antijenine karşı gelişen immün yanıtın, HLA-DR3 haplotipi ile dermatofagoides antijenlerine karşı oluşan immün yanıtın birbiriyle ilişkili olduğu saptanmıştır. Astımlı olgularda HLA-B7, SC31 ve DR2 haplotiplerine daha sık olarak rastlanırken, HLA-B8, SC01 ve DR3 haplotiplerinin sadece rinitli olgularda bulunduğu gösterilmiştir (9, 14).

Onikinci kromozom astım ve total IgE fenotipleri ile bağlantılıdır. 12q13 bölgesi üzerindeki aday genler IFN- $\gamma$  geni,  $\beta$ -subünit nükleer faktör, mast hücre büyüme faktörü geni, nitrik oksit sentetaz geni, fosfolipaz A2 geni ve insülin benzeri büyüme faktör 1 (IGF-1) genleridir. Bu kromozom üzerindeki STAT 6 geni ve nitrik oksit sentetaz 1 geni (NOS1) uyarısı ile serum IgE düzeyinde artış ve dolayısıyla astım ve atopi gelişimi ile ilişkileri saptanmıştır. Ayrıca STAT 6 geni IL-4/IL-13 uyarısında önemli bir role sahiptir (15).

Onüçüncü kromozom üzerinde atopi, akar duyarlılığı, total serum IgE ve total serum IgA düzeyleri ile ilişki saptanan bir bölge gösterilmiştir. Bu bölge ‘major atopi lokusu’ olarak adlandırılmıştır ve humoral immün yanıtın oluşumunda düzenleyici bir role sahip olabileceği veya allerjenin mukozada karşılanmasında rol alarak hem IgA düzeylerini hem de atopik yapı gelişimini etkileyebileceği öne sürülmektedir (16).

Onaltıncı kromozom üzerinde IL-4 reseptör geni bulunur ve IL-4’ün IgE sentezindeki rolü nedeniyle, atopi ve astım için önemli aday genler arasında yer almaktadır. Hiper IgE sendromu olan olgular arasında IL-4R geninde aminoasit diziliminde bir değişiklik (Gln576 Arg) saptanmıştır (15).

Yirminci kromozom üzerinde ilk astım geni olan disintegrin ve metalloproteinaz ailesinin bir üyesi olan ADAM33 geni (kromozom 20p) bulunur. ADAM33 geni ile astım ve bronş aşırı duyarlılığı arasında ilişki tanımlanmıştır. Bu gen ürünlerinin fibroblastların ve bronş düz kas hücrelerinin yüzeyinde gösterilmesinden sonra, ADAM33 genindeki polimorfizmlerin astımda remodeling



sürecinde ve bronşiyal hiperreaktivite gelişiminde rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (17-19).

Literatürde sadece 2006-2007 yılları arasında bile astımla ilgili 53 yeni aday gen bildirilmiştir. Astım genetiğinden sorumlu tutulan TNF geni, IL-19 geni, ACE geni ve N-asetil transferaz gibi birçok aday gen mevcuttur. Ayrıca toll-like reseptörlerin ve enflamasyonla ilişkili olan birçok genin de astım gelişiminde önemli etkileri olduğu saptanmıştır. IL-13, IL-17F, filagrin geni, sisteinil lökotrien reseptör genleri gibi astım duyarlılığında etkin olan genler ve ORMDL3 gibi birçok diğer gen de gittikçe astım genetiğinde daha popüler olmaya başlamaktadır. Bu konudaki ileri dönemde yapılacak çalışmalara ufuk tutmaktadırlar (20).

Astım genetiği çok bilinmeyenli ve çok bileşenli bir denklemler yumağıdır ve heterojen, poligenik bir kalıtım göstermektedir. Bu nedenle temelde yatan patolojinin basit bir-iki mekanizma ile açıklanması mümkün değildir. Özellikle çevresel faktörler ile ilişkili genlerin tanımlanması, ileride astım gelişme riski taşıyan çocuklarda yaşamlarının erken dönemlerinde koruyucu tedbirlerin alınmasına katkıda bulunacaktır (21).

#### **1.1.3.1.2. Obezite**

Obezite ve astım arasındaki ilişki için olası mekanizmalar; obezite ile ilişkili mekanik değişiklikler, havayolu inflamasyonu, hava yolu aşırı duyarlılığı ile ilgili değişiklikler, fiziksel aktivite ve beslenme değişikliklerini içermektedir. Birçok prospektif çalışma; obezitenin ilerleyen dönemde astım gelişme riskini arttırdığını göstermektedir. Ayrıca; obezitenin, astımı olan çocuklarda yaşam kalitesini azaltıcı etkisinin olduğunu ve astımın klinik şiddetini arttırdığını göstermektedir (22).

#### **1.1.3.1.3. Cinsiyet**

Erkek cinsiyet çocuklarda astım için bir risk faktörüdür. Astım prevalansı, 14 yaşından önce erkek çocuklarda kız çocuklara göre yaklaşık 2 kat yüksektir. Çocuklar büyüdükçe cinsiyetler arasındaki farklılık azalır ve erişkinlik çağında astım prevalansı kadınlarda erkeklerden daha yüksektir. Cinsiyete bağlı bu farklılıkların nedeni açık değildir. Ancak akciğerlerin boyutlarının, doğumda erkek çocuklarda kız çocuklardakinden daha küçük, erişkinlik çağında daha büyük olması ile açıklanabilir (1).

### **1.1.3.2. Çevresel faktörler**

#### **1.1.3.2.1. Allerjenler**

İç ve dış ortamdaki allerjenlerin astım alevlenmelerine yol açtıkları iyi bilinmesine rağmen, astım gelişimindeki rolleri tam aydınlatılamamıştır. Yenidoğan döneminden başlayan kohort çalışmaları, ev tozu akar allerjenleri, kedi ve köpek tüyü ile Aspergillus'un 3 yaşına kadar astım benzeri semptomlar için risk faktörü olduklarını düşündürmektedir. Allerjen teması ve çocuklardaki duyarlanma arasındaki ilişkinin allerjene, dozuna, maruziyet dönemine, çocuğun yaşına ve muhtemelen genetik faktörlere bağlı olduğu düşünülmektedir. Yine de bazı çalışmalarda, ev tozu akar allerjenleri astım gelişimi için bir risk faktörü olarak bulunmuşken, diğer çalışmalar bunu doğrulamamıştır. Hamam böceğinin allerjik duyarlanma için önemli bir neden olduğu gösterilmiştir. Kedi ve köpeklerin rolünü araştıran bazı çalışmalarda, erken yaşlarda bu allerjenlere maruziyetin, allerjik sensitizasyon ve astım gelişimine karşı koruyucu olabileceği gösterilmişken, diğer çalışmalar bu tür maruziyetin allerjik duyarlanma riskini arttırabileceğini ileri sürmüştür. Bununla beraber, kırsal kesimde yetişen çocuklarda, astım prevalansı genel olarak düşük bulunmuştur. Bu durum hijyen hipotezi ile açıklanmaktadır (2).

#### **1.1.3.2.2. Enfeksiyonlar**

Bebeklik çağında bazı virüsler astımla ilgili fenotipin başlangıcı ile ilişkilendirilmiştir. Respiratuar sinsityal virüs (RSV) ve parainfluenza virüsü, bronşiyolit dahil olmak üzere çocukluk çağı astımının birçok özelliği ile benzerlik gösteren bir semptom kalıbının ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Hastaneye yatırılan ve RSV olduğu belgelenen çocuklarda yapılan, uzun süreli ileriye yönelik birkaç çalışmada, bu hastaların yaklaşık %40'ında hışıltılı solunumun devam ettiği veya geç çocukluk çağı astımının ortaya çıktığı gösterilmiştir. Öte yandan yaşamın erken dönemlerinde geçirilen bazı solunum yolu enfeksiyonlarının (kızamık ve hatta RSV gibi) astım gelişimine karşı koruyucu olabileceğine işaret eden bazı kanıtlar vardır. Veriler kesin sonuçlara varılması için yeterli değildir. Astımdaki "hijyen hipotezi", yaşamın erken dönemlerinde enfeksiyonlara maruz kalınmasının, çocuğun bağışıklık sistemini, astım ve diğer alerjik hastalıkların gelişme riskinde azalmayla sonuçlanan, "allerjik olmayan" bir yola yönlendirdiğini öne sürmektedir. Hijyen

hipotezi halen araştırılmaya devam edilmektedir; ancak bu mekanizma, ailenin kalabalıklığı, doğum sırası, kreşlere devam etme ile astım riski arasındaki ilişkileri açıklayabilir. Örneğin, daha büyük kardeşleri olan küçük çocuklar ve kreşe devam eden çocuklarda enfeksiyon riski daha yüksektir; ancak sonraki yaşamlarında astım ve diğer alerjik hastalıklara karşı korunma geliştirmektedir (1).

#### **1.1.3.2.3. Mesleksel duyarlaştırıcılar**

İş ortamlarında maruz kalınan etkenler nedeniyle üç yüzden fazla maddenin mesleksel astım ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Bu maddeler arasında, izosiyanatlar gibi yüksek derecede reaktif küçük moleküller, immünojen olarak bilinen ve hava yolu cevabını etkileyen platinyum tuzu gibi iritanlar ile IgE yapımını uyarıcı kompleks bitki ve hayvan ürünleri yer almaktadır. Astım endüstrileşmiş ülkelerdeki en yaygın mesleksel solunum sistemi hastalığı olup, mesleksel duyarlılaştırıcıların çalışma yaşındaki erişkin astımının yaklaşık 10'da birinden sorumlu oldukları tahmin edilmektedir (1, 2).

#### **1.1.3.2.4. Sigara**

Astımlı bireylerde sigara kullanımı akciğer fonksiyonlarını azaltıcı etki göstermekte ve astım ataklarının şiddetini arttırmaktadır (23). Gebelik sırasında sigara kullanan annelerin bebeklerinde, sigara içmeyen annelerin bebeklerine oranla, doğumdan itibaren bir yıl boyunca hışıltılı solunum ile seyreden hastalık görülme sıklığı 4 kat daha yüksek bulunmuştur (24). Cohen ve ark. (25) yaptığı bir çalışmada; pasif içicilik ve sigara dumanına maruz kalmanın, astımın şiddetlenmesine ve astımlılarda akciğer fonksiyonunda bozulmaya neden olduğu vurgulanmıştır.

#### **1.1.3.2.5. Hava Kirliliği**

Hava kirliliğinin akciğer fonksiyonu üzerinde olumsuz etkisi bulunmaktadır. Fakat bu fonksiyon kaybının astım gelişimiyle ilgili ne tür bir ilişkisinin bulunduğu bilinmemektedir (26).

#### **1.1.3.2.6. Beslenme**

Astım gelişimi ile beslenme arasındaki ilişki de özellikle anne sütünün üzerinde yoğunlaşmıştır. Anne sütü ile beslenen bebeklerle karşılaştırıldığında, inek sütü ve soya proteininden elde edilen hazır mamalar ile beslenen bebeklerde hışıltılı solunum ile seyreden hastalık insidansının daha yüksek olduğu bulunmuştur (27).

Yapılan bir çalışmaya göre; margarin ve bitkisel yağlarda bulunan omega-6 çoklu doymamış yağ asidi alımının artmasının ve özellikle yağlı balıklarda bulunan omega-3 çoklu doymamış yağ asidi alımının azalmasının, astım ve atopik hastalık sıklığındaki artışa katkı sağladığı ileri sürülmüştür. Meyve-sebze gibi antioksidan içeriğe sahip gıdaların alımının azalması ve artmış oranda işlenmiş ve hazır gıda ile beslenmenin de bununla ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (28).

Vitaminlerden özellikle A, C, E vitaminleri, karotenler, pridoksin, riboflavin, çinko ve magnezyumdan yetersiz beslenen bireylerde; astım semptomları ve bronş aşırı duyarlılığı arasında ilişkili bulunmuştur (29).

Son dönemde üzerinde durulan konulardan biri vitamin D alımıdır. Astım ile vitamin D arasındaki ilişkiyi inceleyen birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların çoğu vitamin D'nin astım ve allerjik hastalıklardan koruyucu olduğunu desteklerken, bazı çalışmalarda ise tam aksine, vitamin D desteğinin astım ve diğer allerjik hastalıklar için risk faktörü olduğu belirtilmektedir (30).

#### **1.1.4. Astım patogenezi**

Astım, çeşitli enflamatuar hücrelerin ve birçok medyatörün rol oynadığı karakteristik fizyopatolojik değişikliklerle seyreden, enflamatuar bir hava yolu hastalığıdır. Astım patogenezindeki en önemli mekanizma hava yolu enflamasyonudur. Hava yolu enflamasyonunun başlaması ile bronş duvarında hiperreaktivite, bronkokonstriksiyon, mukozal ödem ve mukus hipersekresyonu meydana gelmektedir. Enflamasyonun uzaması sonucu bronş epitel hücrelerinde hasar oluşmakta ve buna bağlı remodelling süreci başlamaktadır. Bu süreçte immün sistem hücrelerinden T hücreleri, B hücresi, antijen sunan hücreler, epitelyum hücreleri ve üretilen çeşitli sitokinler görev almaktadır (1).

Allerjik enflamasyon iki fazdan oluşmaktadır. İlk fazda allerjen ile karşılaşan dendritik hücre (DH) antijeni hücre içine alır ve işlem sonrası majör histocompatibility complex (MHC) sınıf-II eşliğinde naiv CD4+ T hücre reseptörüne sunar ve naiv CD4+ T hücresi, Th2 tipi efektör hücreye farklılaşır. Th2 hücresi, IL-4 ve IL-13 sitokinlerini üreterek B lenfositlerde allerjene özgü IgE yapımına neden olur. IgE ise mast ve bazofil yüzeyinde yer alan yüksek afiniteli FcεRI reseptörüne bağlanarak sensitizasyonu sağlar. Bu sensitizasyon ikinci faz olarak da tanımlanır ve olguların tekrar aynı antijen ile karşılaşmaları durumunda özgül IgE mast hücresi

üzerinde köprüleşme oluşturacak şekilde bağlanır (galektin-3 aracılığıyla) ve saniiyeler içinde granüllerde hazır bulunan histamin, nötral proteazlar ve proteoglikanın ortama salınımı gerçekleşir. IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-5, IL-6 ve IL-8 transkripsiyonu başlatılır. Histamin salınımı ile vazodilatasyon ve bölgede hücrelerin çoğalmasıyla enflamasyon başlamış olur (31).

Dendritik hücreler, T hücelere allerjinen tanıtılmasında ve efektör hücelerin allerjik enflamasyonu başlatmasında önemli rol oynar. Dendritik hücelere; antijenle karşılaşmadan önce, mukoza, cilt, intestinal lamina propria ve akciğerlerde hava yolu epitelinin bazolateralinde immatür halde bulunurlar. Bu immatür DH'ler, toll-like reseptör, nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon domain-like reseptör veya C-tipi lektin reseptörü aracılığıyla antijeni alır ve T hücelerin zengin olduğu lenf nodlarına ortamda bulunan kemokin reseptör CCR7 ve CCR8 sayesinde göç ederler. Bu sırada fonksiyonel ve fenotipik birtakım değişikliklere uğrayarak; MHC sınıf-I, MHC sınıf-II, CD80 ve CD86 kostimülatör moleküllerinin ekspresyonunu artırır (31, 32).

T hücelere DH'ler tarafından işlenmiş antijen sunulmasıyla enflamasyon başlamış olur. Akciğerlerde Th2 yönünde farklılaşma da plazmositoid tipte DH'ler görev alır. Bu hücelere aynı zamanda DH2'de denilir. Th2 yönünde hücre oluşumunda; basofillerden IL-4, IL-13, natural killer hücelereinden IL-4, IL-13, IL-17 ve epitelyum hücelereinden IL-25, IL-33, granulosit-monosit koloni-stimulan faktör (GM-CSF) ve timik stromal lenfopoietininin (TSLP) salınımı katkıda bulunur (31).

Enflamasyonun ilerlemesiyle epitel hücelereinden eotaxin/CCL11, monosit kemoatraktan protein (MCP)/CCL2, RANTES (Regulated on Activation, Normal T cell Expressed and Secreted)/CCL5 gibi mediatörler ve platelet derived growth faktör (PDGF) gibi büyüme faktörleri salgılanır. Ayrıca Th2 ve mast hücelere tarafından salınan IL-3, IL-5 ve GM-CSF sayesinde ortamda eozinofil toplanır. Eozinofillerin aktifleşmesiyle ortama salınan major basic protein (MBP), peroksidaz, nörotaksin, eozinofilik katyonik proteine bağlı olarak bronş duvarında hasar meydana gelir (33).

Bu hasar sonucu daha fazla bazofil ve mast hücre aktivasyonu gerçekleşir ve tetiklenmiş enflamasyonun artışı sağlanır. Eozinofillerden salgılanan önemli

miktardaki Transforming growth faktör beta (TGF- $\beta$ ), hava yolunun yeniden yapılandırılmasında önemli rol oynayan faktörlerden biridir (31).

Astım immünopatogenezinde önemli rol oynayan hücrelerden biri de T lenfositlerdir. Antijen sunucu hücreler; genetik ve çevresel faktörler, ortamda bulunan sitokinlerin yoğunluğuna bağlı olarak naiv T (Th0) lenfositlerini çeşitli alt hücre tiplerine çevirir. Bunlardan astımla ilişkili olabilecek olanlar, Th2, Th9, Th17'dir ve Th2 lenfositler allerjik enflamasyonda esas rolü oynayan hücrelerdir. Th1 hücreleri allerjik hastalıkların oluşumuna karşıt hücreler olarak bilinir. Ortamda bulunan DH1 hücresi, IL-12 varlığında naiv Th0 hücresini, STAT4 (Signal Transducer and Activator of Transcription) yolağını kullanarak T-bet transkripsiyon faktörüne bağlı olarak Th1 hücre grubuna dönüştürür (31).

Astımda 100'ün üzerinde farklı medyatörün rol aldığı ve hava yollarındaki karmaşık enflamatuar yanıtı aracılık ettiği bilinmektedir. Bu medyatörlerin başlıcaları kemokinler, sisteinil lökotrienler, sitokinler, histamin, nitrik oksit, prostaglandin D<sub>2</sub>'dir (1).

Kolinerjik, adrenerjik ve non adrenerjik, non kolinerjik (NANC) nöral mekanizmaların dengeli çalışmasının bozulması da bronşiyal hiperreaktivite gelişiminde etkilidir. Astımda artmış bir eksitatör ve azalmış bir inhibitör nöral geçiş söz konusudur. Asetil kolin (Ach), substans P (SP), nörokinin A (NK-A), NK-B, NK-K, kalsitonin gen bağımlı peptid (CGRP) gibi nörotransmitterler; kolinerjik ve non kolinerjik eksitatör nörotransmitterlerdir. Norepinefrin (NE), epinefrin (E), vazoaaktif intestinal polipeptit (VIP), peptihistidin metyonin (PHM), nitrik oksit (NO) ise inhibitör adrenerjik ve non adrenerjik nörotransmitterlerdir (9, 34).

Ancak aynı sinirde inhibitör ve eksitatör nörotransmitterler birlikte yer almalarına rağmen, çeşitli uyaranlarla ve dengesiz bir nöral kontrolde farklı salınımlar olmaktadır. Özellikle eksitatör uçların hakimiyeti ile bronkomotor tonus üzerinde kasılma, hava yolu sekresyonunda artma, bronşiyal dolaşımda vazodilatasyon, enflamatuar hücrelerde tetikleyici etkiler oluşur (9, 35)

Nitrik oksit, NANC inhibitör nöronlarda yapılabildiği gibi, makrofajlar, nötrofiller, mast hücreleri, fibroblastlar, düz kas hücreleri, endotel ve epitel hücrelerinde de yapılır. Nitrik oksit sentetaz (NOS) enzimi aracılığı ile sentezlenir. NOS enziminin 2 izoformu bulunmaktadır. Birincisi; yapısal NOS (cNOS):

hücrelerde yapısal olarak bazal düzeyde bulunur. Guanil siklazı aktive ederek fizyolojik olayları regüle eder (bronş ve düz kas relaksasyonu sağlaması). Kortikosteroidlerle yapımı etkilenmez. İkincisi; uyarılabilir NOS (iNOS): bazı uyarılardan (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1, endotoksin gibi) sonra yapılıp aktivasyon kazanır. Kortikosteroidlerle iNOS'a bağlı NO yapımı azaltılabilir. Astımlı hastalarda; enflamatuar hücrelerden açığa çıkan sitokinler ile iNOS transkripsiyonu olur ve buna bağlı NO yüksek konsantrasyonda sentezlenir. Bu da, cNOS'un inhibisyonuna ve guanil siklazın desensitizasyonuna neden olup, bronkodilatatör yanıtı ortadan kaldırır (9, 36).

Astımdaki hava yolu enflamasyonu, semptomlar ataklarla seyretmesine rağmen, devamlılık göstermektedir ve astım şiddeti ile enflamasyonun yoğunluğu arasındaki ilişki açık bir şekilde belirlenememiştir. Enflamasyon hastaların çoğunda üst solunum yolu ve burun da dahil olmak üzere tüm hava yollarında vardır; ancak fizyolojik etkilerinin en belirgin olduğu yer orta büyüklükteki bronşlardır. Hava yollarındaki enflamasyonun allerjik olup olmadığı, hastanın yaşı, aspirinle indüklenip indüklenmediğine bakılmaksızın astımın tüm klinik formlarında benzerdir (1).

#### **1.1.5. Astım tanısı**

Astım tedavisinin başarılı olabilmesi için astım tanısının doğru konulması çok önemlidir. Astım semptomları zaman zaman ortaya çıkacağından ve bu hastalığa spesifik olmadığından hem hekim hem de hastalar tarafından yeterince önemsenmeyebilir ve yanlış tanı konulmasına neden olabilir. Yanlış tanı özellikle çocukluk yaş grubunda daha sık olmakta ve hastalık bronşitin değişik formları veya krup ile karışabilmektedir. Buda uygun olmayan tedavilerin verilmesiyle sonuçlanabilmektedir (2).

##### **1.1.5.1. Anamnez**

Birçok hastalıkta olduğu gibi astım tanısında da anamnez çok önemlidir. Nöbetler halinde gelen nefes darlığı, hışıltı, öksürük ve göğüste sıkışma hissi gibi semptomlar en sık karşılaşılan klinik bulgulardır. Tanısal testlerin pozitif olması tanıyı destekler fakat negatif olması tanıyı dışlamaz (37).

Fenotipik olarak astım, oldukça heterojen bir hastalıktır. Hastaların yaşına, cinsiyetine, atopi varlığına, inflamasyonun tipine ve hastalığın şiddetine göre klinik

değişmektedir. Fenotipik sınıflama; infantil ve okul öncesi dönem için yapılmış, yaşı daha büyük olan gruplar için net bir sınıflama tanımlanmamıştır (38).

Astımlı hastaların çoğunda rinit semptomları da vardır. Rinit ile ilişkili astım da; hasta mevsimler arasında tamamen asemptomatik olup semptomlar aralıklı olarak ortaya çıkabilir, semptomlarda mevsimsel olarak kötüleşme olabilir ya da zeminde persistan astım bulunur. Semptomların mevsimsel veya gün içinde değişkenlik göstermesi, duman, sis, çeşitli kokular, egzersiz gibi nedenlerle tetiklenmesi, geceleri artış olması ve uygun astım tedavilerine yanıt vermesi astım tanısını destekler (1, 2).

Ailede astım öyküsünün bulunması ve atopik hastalıkların varlığı tanıyı koymada oldukça yardımcıdır. Bazı duyarlı bireylerde, polen, küf mantarları gibi mevsimsel artış gösteren etkenlerle astım alevlenebilir. Astım tanısını koymada kullanılabilecek sorular Tablo 4’te verilmiştir (2, 39).

#### **1.1.5.2. Prediktif Astım İndeksi**

Prediktif astım indeksi (PAI) ilk kez 2000 yılında Tuscon doğum kohort çalışma grubu tarafından geliştirilerek kullanıma sunulmuştur. Astım gelişimi için yüksek risk taşıyan çocukları belirlemek üzere geliştirilmiş bir yöntemdir. Bu indeks ilk üç yaş için belirlenen risk faktörleri ile özellikle okul çocuğu yaş grubuna ait astım durumunu değerlendirmeye imkan sağlar (Tablo 3) (40).

Bu çalışmada erken dönemde hışıltı (3 yaş altı,  $\geq 3$  atak/yıl) ile birlikte en az 1 majör veya 2 minör kriteri taşıyan çocuklarda; okul çağı dönemde (6-13 yaş aralığında) aktif astım olasılığı % 77 olarak belirtilmişken, PAI skoru negatif olan çocukların okul çağı dönemde aktif astım olasılığı ise %3 olarak belirtilmiştir. PAI, farklı ülke ve ırklar üzerinde başarıyla uygulanmakta ve günümüzde en çok tercih edilen skorlama sistemidir (41).

**Tablo 3.** Modifiye Prediktif Astım indeksi (42)

<b>Majör Kriterler</b>	<b>Minör Kriterler</b>
Ailede doktor tanımlı astım öyküsü	Doktor tanımlı alerjik rinit
Çocukta doktor tanımlı egzema varlığı	Enfeksiyon olmadan hışıltı
Aeroallerjen duyarlılığı tanısı	Eozinofili ( $\geq 4\%$ )
	Gıda allerjisi tanısı



**Tablo 4.** Astımdan şüphe edilen veya astım tanısı almış bir kişide sorgulanması önerilenler

**1- Semptomlar**

- Öksürük
- Hışıltılı solunum
- Nefes darlığı
- Göğüste baskı hissi
- Balgam

**2- Semptomların özelliği**

- Mevsimsel, yıl boyu veya ikisi birlikte
- Sürekli, epizodik veya ikisi birlikte
- Başlangıç süresi, sıklığı (gece ve gündüz sıklığı, ayda veya yılda sayısı)
- Günlük değişkenlik

**3- Tetikleyen ve/veya şiddeti arttıran nedenler**

- Viral solunum sistemi infeksiyonları
- Ev içi (mantar, ev tozu akarları, hamam böceği, evcil hayvanlar) veya ev dışı allerjenler (ör. polen)
- Mesleki kimyasallar veya allerjenler
- Çevresel değişiklik (taşınma, iş değişikliği, seyahate gitme, kullanılan malzemelerde değişiklik)
- İrritanlar (sigara dumanı, güçlü kokular, mesleki kimyasallar, partiküller ve tozlar, buhar, gaz veya aerosoller)
- Emosyonel faktörler (korku, kızgınlık, aşırı gülme veya ağlama)
- İlaçlar (aspirin, tablet ve göz damlası şeklinde beta-blokerler, non steroid antiinflamatuvarlar)
- Gıdalar, katkı maddeleri ve koruyucular (ör: sülfidler)
- Hava koşullarında değişiklikler, soğuk havaya maruziyet
- Endokrin faktörler (menstrasyon, hamilelik, tiroid hastalıkları)

**4- Hastalığın gelişimi ve tedavi**

- Başlangıç yaşı ve tanı
- Hava yollarında erken yaşlarda harabiyet öyküsü (ör: bronkopulmoner displazi, pnömoni, ailesel sigara içimi)
- Hastalığın ilerlemesi (iyi veya kötüye gidiş)
- Şu anda uygulanan tedavi planı ve cevap, atak planı
- Sistemik kortikosteroid kullanım ihtiyacı ve sıklığı
- Komorbid durumlar

**5- Aile öyküsü**

- Yakın akrabalarda astım, allerji, rinit, sinüzit veya nazal polip öyküsü

**6- Sosyal öykü**

- Yaşanılan konutun özellikleri (ısınma, soğutma, halı, yemek pişirme vb.)
- Sigara içimi (hasta veya evde yaşayan diğer kişilerin)
- İş yeri, okul veya günün geçirildiği yerin özellikleri
- Madde bağımlılığı gibi hastalığı etkileyebilecek faktörler
- Eğitim düzeyi
- Çalışıyorsa iş yeri ortamı

**7- Astımın hasta ve ailesi üzerine etkisi**

- Planlanmamış ziyaretlerin sıklığı (acil başvuruları, hastaneye yatış)
- Hayatı tehdit eden atak sıklığı (ör: entübasyon, yoğun bakıma yatış)
- İşe veya okula gidilemeyen gün sayıları
- Aktivite kısıtlanması özellikle spor ve performans gerektiren durumlarda
- Gece uyanma öyküsü
- Büyüme, davranış ve okul ve iş performansına, yaşam biçimine etki
- Aile rutinleri ve aktiviteleri üzerine etki
- Ekonomik etkisi

**8- Hasta ve ailesinin hastalık hakkında izlenimleri**

- Hasta, ailesi ve yakınlarının hastalık hakkında bilgileri, hastalığın kronik seyri ve tedavisi ile ilgili bilgi durumları
- Hastanın uzun süre ilaç kullanma ile ilgili algılama ve inançları
- Hasta ve yakınlarının hastalık ile başa çıkma yetenekleri
- Hasta, ailesi ve yakınlarının astım atak ciddiyetini tanıma yetenekleri
- Ekonomik kaynaklar
- Sosyo kültürel inançlar

### **1.1.5.3. Fizik Muayene**

Hasta semptomatik değilse solunum sistemi muayenesi normal bulunabilir. Ancak fizik incelemenin normal olması astım tanısını dışlamaz. Semptomatik dönemlerde astımda tipik muayene bulgusu oskültasyonda duyulan hışıltılı solunumdur ve bulgu hava yolu kısıtlanmasının varlığını gösterir. Hışıltı astımda tipik bir semptom olmasına karşın çok ağır astımlılarda hava akımının ve ventilasyonun ciddi ölçüde azalmasına bağlı olarak duyulmayabilir (sessiz akciğer) yada yalnızca hasta kuvvetle nefes verdiği işitilebilir. Ancak bu durumdaki hastalarda genellikle bilinç bulanıklığı, nefes darlığı, takipne, siyanoz, taşikardi, yardımcı solunum kaslarının solunuma katılması ve interkostal, sukostal retraksiyonlar, konuşma güçlüğü, göğüste hiperinflasyon gibi diğer fizik muayene bulguları vardır.

Diğer klinik belirtiler genellikle yalnızca hastada semptomlar varken yapılan muayenede saptanır. Hiperinflasyon, hastaların hava yollarının dışa doğru retraksiyonunu artırmak ve daha küçük hava yollarının (bu yapılar hava yolu düz kas kontraksiyonu, ödem ve mukus hipersekresyonu nedeniyle daralmıştır) açıklığını korumak amacıyla daha yüksek akciğer hacimlerinde solunum yapmaktan kaynaklanır. Astım alevlenmesi sırasında ortaya çıkan hiperinflasyon ve hava akımı kısıtlanması solunum işini belirgin ölçüde artırır.

Astımlı hastaların büyük çoğunluğunda rinit görülebildiğinden, fizik inceleme sırasında rinit, geniz akıntısı ve nazal obstrüksiyon bulguları açısından üst solunum yolu muayenesinin de yapılması önerilir (1, 2).

### **1.1.5.4. Laboratuvar**

#### **1.1.5.4.1. Solunum Fonksiyon Testleri**

Astım tanısı genellikle bu hastalığın karakteristik olan semptomlarının varlığı ile konur. Bunun yanında solunum fonksiyonlarının ölçümü ve özellikle solunum fonksiyon bozukluğunun geri dönüşlü olduğunun gösterilmesi astım tanısını büyük oranda doğrular. Çünkü astımlı hastalar semptomlarının farkında olmayabilir ve özellikle uzun süredir hastalığı olanlarda semptom ciddiyetini algılama azalmıştır. Solunum fonksiyon testi genellikle beş yaş üzeri çocuklara uygulanabilmektedir.

Testin tekniği, uygulama öncesinde çok iyi anlatılmalı ve hastaya üç kez yaptırılarak en yüksek değer dikkate alınmalıdır.

Astım tanı ve izleminde genellikle spirometre ile ölçülen dört parametre kullanılır.

1. FVC (maksimal bir inspirasyondan sonra zorlu bir ekspirasyonla çıkarılan hava hacmi= forced vital capacity)

2. FEV1 (zorlu ekspiryumda ilk saniye içinde çıkarılan hava miktarı= forced expiratory volume in 1 second)

3. PEF (ekspiratuar zirve akım hızı= peak expiratory flow)

4. %MEF25-75 (zorlu vital kapasitenin %25'i ile %75'i kadarki ortalama akım=maximal expiratory flow between 25 and 75% of the FVC).

Ekspiratuar zirve akım hızının büyük bronşlar, FEV1'in büyük ve orta çaplı bronşlar, MEF 25-75'in ise orta ve küçük çaplı bronşlar hakkında fikir verdiği kabul edilmektedir. Spirometrik değerlerde etnik farklılıklar olabileceği gösterilmiş olduğundan, her hastada beklenen FEV1 ve FVC değerleri için uygun tahmin denklemleri yapılmalıdır. Gençlerde (<20 yaş) ve ileri yaştaki bireylerde (>70 yaş) normal değer aralıkları daha geniştir ve beklenen değerler daha az güvenilirlerdir. Birçok akciğer hastalığı FEV1 değerinde azalmaya yol açtığından, hava akımı kısıtlanmasının değerlendirilmesinde FEV1/FVC oranı yararlı olmaktadır. FEV1/FVC oranı normal olarak 0,75-0,80'den ve çocuklarda da olasılıkla 0,90'dan büyüktür. Bu değerlerin altındaki değerler, hava akımı kısıtlanmasına işareti eder (1).

Bir hastanın testinde obstrüksiyon saptandığında bu obstrüksiyonun bronkodilatör ile geri dönüşümlü olup olmadığının tespiti gerekir. Bronkodilatatörlü solunum fonksiyon testinde bazal solunum fonksiyon testi yapıldıktan sonra değerler alınır ve sonra hastaya bronkodilatatör (4 puf salbutamol: 400 mikrogram veya 4 puf terbutalin: 1000 mikrogram) verilir. 15 dakika sonra test tekrarlanır ve bazal değerler ile karşılaştırılır. Bu test sonucunda FEV1'de %12 veya 200 ml ve üzerinde, PEF değerinde %20 artış olması astımın en önemli özelliklerinden olan reverzibilitenin varlığını gösterir (2).

Bazı hastalarda reverzibl hava akımı kısıtlanması 2-3 hafta oral kortikosteroid (20-40 mg/gün prednizolon) veya 6-8 hafta uygun doz inhaler steroid tedavisi ile

ortaya konulabilir. Tedavi sonrası FEV1 değerlerinde başlangıca göre %15 artış görülmesi geç reverzibilite varlığı olarak değerlendirilir (1, 2).

#### **1.1.5.4.2. Provokasyon testleri**

Astımla uyumlu semptomları olmakla birlikte, akciğer fonksiyonları normal bulunan hastalarda; ev tozu akarı, polen allerjeni gibi spesifik ve metakolin, adenozin difosfat (ADP), manitol, histamin, egzersiz gibi nonspesifik uyaranlara karşı hava yolundaki daralmayı gösterir. Havayollarının direkt (ör. metakolin) veya indirekt (ör. mannitol) uyaranlara karşı verdiği bronkokonstriktör cevap spirometre ile ölçülerek sonuçlar başlangıç FEV1 değerini %20 düşüren provokatör ajanın dozu veya konsantrasyonu (PC20) olarak ifade edilir. Bu test astım tanısı için duyarlıdır; ancak özgülüğü sınırlıdır. Yani testin negatif olması, inhaler kortikosteroid kullanmayan bir hastada, astımın ekarte edilmesi açısından yararlıdır fakat pozitif test her zaman hastanın astım olduğu anlamına gelmez. Çünkü bronş hiperreaktivitesi, kistik fibroz, allerjik rinit, bronşiektazi, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, konjestif kalp yetersizliği gibi diğer hastalıklarda ve genel popülasyondaki asemptomatik kişilerde de görülebilir (1, 39, 43).

#### **1.1.5.4.3. Deri Testleri**

Başta allerjik rinit olmak üzere diğer allerjik hastalıklar ile astım arasında güçlü bir ilişki vardır. Bu sebeple gerektiğinde astımlı kişilere ayrıntılı allerjik değerlendirme yapılması tanı ve tedavi yönünden yararlı olabilir. Anamnez ve deri prik testi ile yapılan bu değerlendirmede semptomlara yol açan risk faktörlerinin bazıları saptanabilir. Eğer hastanın anamnezi test sonuçları ile uygunluk göstermiyorsa bu değerlendirme anlam taşımaz. Testi yapmaktaki asıl amaç, atopik astımlıları belirlemek ve eğer kişinin bulunduğu ortamda kendisini etkileyen bir allerjen varsa ondan uzaklaşmasını sağlamaktır. Neredeyse tüm dünya ülkelerinde olduğu gibi ülkemizdeki atopik astımlı hastaların çoğunda ev tozu akarlarına karşı duyarlılık mevcuttur. Ülkemizin sahil kesimlerindeki akar duyarlı atopik astımlıların oranı, iç ve doğu kesimlerden fazladır (2).

Deri testinin uygulanması kolaydır ve erken faz allerjen duyarlılığını göstermektedir. Tanı koymada deri testlerinin duyarlılığı %95'in üstündedir. Bunlar prick ve intradermal olarak uygulanabilir. Prick testleri, akarlar, ot, ağaç ve tahıl

poleni, yabancı otlar, tüyler, hayvan epitelyumları, mantarlar, hamam böceği, lateks, besinler ve yabancı otlar için uygulanabilir. Testte pozitif sonuç alabilmek için, ortamda spesifik bir allerjene karşı oluşmuş IgE antikoru, mast hücrelerinden mediyatörlerin salınabilmesi, cildin histamine cevap verebilmesi ve allerjen varlığı gereklidir. 1/10-1/20 dilüsyondaki allerjenler 2 cm aralıklarla, pozitif kontrol için histamin, negatif kontrol için salin kullanılarak her iki kolun volar yüzüne uygulanır. 15-20 dakika sonra okunur ve negatif kontrole göre  $\geq 3$  mm kabarıklık pozitif olarak değerlendirilir. İnfant ve küçük çocuklarda histamin ve allerjenlerle deri reaktivitesi düşüktür. Bu nedenle negatif bulunabilir. Prik testi genel olarak güvenilir olup nadir de olsa sistemik allerjik reaksiyon bildirilmiştir (genel sıklık %0,5'in altında). Bu tür reaksiyonlar ticari olmayan allerjenlerin kullanımında daha sık görülmektedir (44, 45).

#### **1.1.5.4.4. Serum Total Ig E ve Allerjen Spesifik Ig E düzeyleri**

##### **1.1.5.4.4.1. Serum total IgE**

Allerji tanısında sıklıkla kullanılan in vitro test yöntemidir. Parazitolar, çeşitli immün yetersizlikler (Wiskott-Aldrich, Hiperimmünoglobulin E sendromu), bronkopulmoner aspergilloz, IgE miyelomu, pemfigoid gibi allerjik hastalıklar dışında pek çok klinik tabloda da serum total IgE seviyeleri yükselebilir. Dolayısıyla her serum total IgE yüksekliği saptanan hastada allerji tanısı koymak mümkün değildir. Yapılan çalışmalarda allerjik olguların %25'inde serum total IgE değerinin normal olduğu saptanmıştır (46).

##### **1.1.5.4.4.2. Serum spesifik IgE**

Radioallergosorbent test (RAST), enzyme linked immuno sorbent assay (ELİSA), kloramfenikol (CAP) sistemleri ile serum spesifik IgE düzeyi ölçülebilmektedir. Allerjen duyarlanmayı göstermede yaygın olarak kullanılan güvenilir bir testtir. Maliyetinin yüksek olması nedeniyle deri testini tolere edemeyen, ağır dermografizm ve atopik dermatiti olan, antihistaminik ve B bloker tedavisi alanlarda tercih edilmelidir. Testin pozitif saptanması kişinin duyarlı olduğunu gösterir. Semptomlardan sorumlu olan allerjenin anamnez ve diğer provokasyon testler ile birlikte değerlendirmesi gereklidir (47).

#### **1.1.5.4.5. Fraksiyone ekshale nitrik oksit ölçümü**

Akciğerlerde NO vazodilatör, bronkodilatör ve NANC nörotransmitter olarak görev alır, enflamatuvar cevabın önemli bir mediyatörüdür. Solunum havasında NO ölçülürken ekshalasyon manevra süresi en az erişkinde 6 sn. çocukta ise 4 sn.'de sonlandırılmalıdır. En az iki plato NO değeri tespit edilmeli ve Fraksiyone ekshale nitrik oksit (FeNO) bu iki değerlerin ortalaması alınarak belirlenmelidir. Yaş, cinsiyet, atopi ve sigara kullanımından FeNO etkilenmektedir. İn hale kortikosteroid ve lökotrien reseptör antagonisti kullanımı FeNO'yu azaltmaktadır. Allerjik astımda artmış inflamatuvar sitokinlerle ilişkili olarak FeNO artar. Atopi, total ve spesifik IgE ile FeNO korelasyon göstermektedir. Fraksiyone ekshale NO eozinofilik enflamasyonun bir göstergesidir ve astım dışı durumlarda yükselmez. Spirometre değerleri ile özgüllüğü ve duyarlılığı %90'ın üzerine çıkmaktadır (48).

#### **1.1.5.4.6. Diğer tetkikler**

Hastaların ilk muayenesinde diğer hastalıkları ekarte etmek, ataklarda ise pnömoni ve pnömotoraks yönünden değerlendirmek amacıyla PA akciğer grafisi çekilebilir. Genellikle normal olup, ataklarda hiperinflasyon bulguları vardır. Hastanın düzenli kontrollerinde rutin grafi çekimi gerekmez (2).

Kanda eozinofil ölçümü astım tanısı için spesifik değildir ve izlem için rutin kullanımı önerilmez fakat eozinofili PAI'nın bir parçasıdır, pozitif prediktif indeksi %76 civarındadır (40).

#### **1.1.6. Astımın sınıflandırılması**

Astımda fenotipler ve çevresel etkenler açısından farklı olguların yanı sıra, inflamasyon düzeyi, semptom ve fonksiyonel parametreleriyle de çok farklı olan olgular vardır. Tedaviye yanıt kişiden kişiye değişmekle birlikte, bazı olgu gruplarının katagorize edilerek sınıflandırılmasının tedavinin standardize edilmesine kolaylık sağlayabileceği düşünülmüştür. Bu amaçla çeşitli rehberlerde bazı sınıflamalar yapılmıştır. Astım etyolojisine göre özellikle çevresel duyarlaştırıcı etkenler açısından sınıflamak için birçok girişimde bulunulmuştur ancak bu tip bir sınıflama çevresel bir nedenin tanımlanamadığı hastaların varlığı nedeniyle yapılamamıştır.

Astım, hastalığın şiddeti ve havayolu akımı kısıtlanmasına dayanılarak da sınıflanmıştır. Burada klinik bulgulara, semptomların tedavisi için kullanılan  $\beta_2$ -agonist miktarı ve akciğer fonksiyon testlerine dayalı parametreler kullanılır. Bu değerlendirmede, tedavi öncesi astım şiddeti sınıflandırması intermittan ve hafif, orta, şiddetli persistan şeklindedir (Tablo 5) (1).

#### **1.1.6.1. İntermittan astım**

En az son üç aydır semptomlar haftada birden az oluyor, kısa sürede geçiyor, noktürnal semptomlar ayda ikiden az oluyorsa ve alevlenmeler dışında hasta asemptomatik ve solunum fonksiyonları tamamen normal (PEF değerleri beklenenin, ya da hastanın en iyi değerinin % 80'inden daha fazla, günlük PEF değişkenliği % 20'den az) ise hastada hafif intermittan astımın varlığından söz edilir.

#### **1.1.6.2. Hafif persistan astım**

En az son üç aydır semptomlar haftada birden fazla, ancak günde birden az oluyor, günlük aktiviteyi ve uykuyu etkiliyorsa, kronik semptomlar nedeniyle hastanın hemen her gün bronkodilatör ilaç gereksinimi oluyorsa, noktürnal semptomlar ayda ikiden fazla oluyorsa ve PEF değerleri % 80'nin üzerinde, ancak günlük PEF değişkenliği %20-30 arasında ise hastada hafif persistan astımdan söz edilir.

#### **1.1.6.3. Orta persistan astım**

Her gün semptomu olan, semptomlar nedeniyle günlük aktivitesi ve uykusu etkilenen, haftada birden fazla noktürnal semptomu olan, semptomları gidermek için her gün bronkodilatör ilaç kullanan, PEF değerleri % 60-80 arasında ve günlük PEF değişkenliği % 30'dan fazla olan hastalardır.

#### **1.1.6.4. Ağır persistan astım**

Bu grup hasta sürekli semptomatiktir. Tedaviye rağmen sık alevlenmeler olur, çok sık gece semptomları ile uyanır, hastalık nedeniyle günlük aktiviteleri sınırlanmıştır. PEF değerleri % 60'ın altında, günlük PEF değişkenliği % 30'dan fazladır. Güncellenen astım rehberlerinde ağırlık veya hastalık şiddeti kavramlarının yerine 'kontrol' kavramı gelmiştir. Daha önce astımda hastalığın şiddetine göre basamak tedavisi uygulanmaktaydı ve bu yaklaşımla hastaların büyük çoğunluğunun

kontrol altında olmadığı ve uygun ilaç kullanmadığı görüldü. Hastalığın şiddetine bağlı tedavi yaklaşımının uygun olmadığı ve bu kavramla ilgili önemli sorunlar olduğu düşünüldü.

**Tablo 5.** Tedavi Öncesinde Astımın Klinik Özellikleri Yardımıyla Şiddetine Göre Sınıflaması

---

**İntermittan**

---

Semptomlar: haftada bir kezden az

Kısa alevlenmeler

Gece semptomları ayda iki kezden fazla değil

- FEV1 ya da PEF değerleri beklenenin  $\geq$  %80'i
- FEV1 ya da PEF değişkenliği  $<$  %20

---

**Hafif Persistan**

---

Semptomlar: haftada bir kezden fazla ama günde bir kezden az

Alevlenmeler aktiviteyi ve uykuyu etkileyebilir

Gece semptomları haftada iki kezden fazla

- FEV1 ya da PEF değerleri beklenenin  $\geq$  %80'i
- FEV1 ya da PEF değişkenliği  $<$  %20-30

---

**Orta Persistan**

---

Semptomlar: her gün var

Alevlenmeler aktiviteyi ve uykuyu etkileyebilir

Gece semptomları haftada bir kezden fazla

Her gün kısa etkili  $\beta$ 2-agonisti kullanımı

- FEV1 ya da PEF değerleri beklenenin %60-80'i
- FEV1 ya da PEF değişkenliği  $>$  %30

---

**Ağır Persistan**

---

Semptomlar: her gün var

Sık alevlenmeler

Sık gece astım semptomları

Fiziksel aktivitelerin kısıtlanması

- FEV1 ya da PEF değerleri beklenenin  $\leq$  %60'ı
  - FEV1 ya da PEF değişkenliği  $>$  %30
-



Hastalık şiddeti değerlendirmesiyle ilgili sorunlar şu şekilde özetlenebilir:

1. Hastalığın şiddeti değişkendir, zaman içinde değişebilir.
2. Semptomlar her zaman hastalığın şiddeti ile korele değildir.
3. Semptomlar ve fonksiyonlar arasındaki korelasyon zayıftır.
4. Hastalığın şiddeti için kullanılan parametrelerin tedaviye yanıtı farklı sürelerde gelişmektedir.
5. Hastalığın şiddeti tedavi yanıtını öngörmeye yetersiz olabilmektedir.
6. Hastalığın şiddetinin her derecesinde kontrol sağlanabilir ancak kontrol sağlamak için gerekli doz değişir.

Bu nedenle hastayı o anki semptom ve fonksiyonlarıyla değerlendirmenin hastalığın değişken doğasına aykırı olduğu sonucuna varıldı. Kontrole göre değerlendirmenin daha uygun olduğuna karar verildi. Amaç her ağırlık derecesinde kontrolün sağlanması ve sürdürülmesidir, ancak hastalığın ağırlığına bağlı olarak kontrolün sağlanması için gereken ilaç dozu değişecektir. Genel olarak kontrol terimi, hastalığın önlenmesi hasta iyileşmesi olarak algılanabilir. Astım remisyon ve relapslarla seyreden bir hastalık özelliği taşıdığından, remisyon dönemlerinde hasta kontrol altındaymış gibi düşünülebilir. Bu yüzden kontrolün klinik metotlarla ölçülmesi önemlidir. Kontrole göre değerlendirme Tablo 6’da verilmiştir (2).

**Tablo 6.** Kontrol Değerlendirmesi

<b>Özellik</b>	<b>Kontrol altında (aşağıdakilerin tümü)</b>	<b>Kısmen kontrol altında (herhangi birinin bulunması)</b>	<b>Kontrol altında değil</b>
<b>Gündüz Semptomları</b>	Haftada $\leq 2$ kez yada yok	Haftada 2 kezden fazla	Bir haftada kısmen kontrol altında olan astım özelliklerinden 3 yada daha fazlasının bulunması
<b>Aktivitelerin kısıtlanması</b>	Yok	Varsa	
<b>Gece semptomları/ uyanmaları</b>	Yok	Varsa	
<b>Rahatlatıcı ilaç gereksinimi</b>	Haftada $\leq 2$ kez yada yok	Haftada 2 kezden fazla	
<b>Solunum fonksiyonları (PEF ya da FEV1)</b>	Normal	Beklenen yada biliniyorsa en iyi kişisel değer $< \%80$ 'i	
<b>Alevlenmeler</b>	Yok	Yılda 1 kez yada daha fazla	Haftada 1 kez

### **1.1.7. Astım tedavisi**

Astımda tedavinin başarılı olabilmesi çeşitli komponentlere dikkat etmek gerekmektedir. İlk olarak; hastalığın aktivitesi izlenmeli ve değerlendirilmeli, ikincisi; hasta ve ailesinin öz-yönetim becerisi ve bilgisini arttırmak için eğitim sağlamalı, üçüncüsü; astımı şiddetlendirebilecek eşlik eden durumlar ve tetikleyici faktörler belirlenmeli ve yönetimi sağlanmalı, dördüncüsü; hastanın ihtiyacı olan uygun ilaçlar seçilerek optimal astım kontrolüne ulaşılmalıdır (49).

#### **1.1.7.1. Farmakoterapi**

Hava yollarındaki enflamasyonu kontrol altına alan ilaçlar tedavinin temelini oluşturur. Hastalar ilaçları kullandıkları sürece enflamasyon baskılanır, buna bağlı olarak semptomlar kaybolur, solunum fonksiyonlarında ve bronş hiperreaktivitesinde düzelme sağlanır. Astım tedavisinde kullanılan ilaçlar iki ana grupta toplanabilir. Bunlar semptomları giderici ve kontrol edici ilaçlardır.

Semptomları giderici ilaçlar; hızla etki ederek bronkokonstriksiyonu düzelten, hastayı rahatlatan ve gerektiğinde kullanılan ilaçlardır. Bu grup; hızlı etkili inhale  $\beta$ 2-agonistleri, inhale antikolinergik ilaçları, kısa etkili teofilini ve kısa etkili oral  $\beta$ 2-agonistleri içerir.

Kontrol edici ilaçlar; esas olarak antiinflamatuvar etkileri yoluyla astımın kontrol altında tutulmasını sağlamak üzere her gün ve uzun süreli kullanılan ilaçlardır. Bu grup; inhale ve sistemik glukokortikosteroidleri, lökotrien antagonistlerini, inhale glukokortikosteroidler ile birlikte kullanılan uzun etkili inhale  $\beta$ 2-agonistleri, yavaş salınan teofilin, kromonlar, anti-IgE ve sistemik steroid dozunun azaltılmasını sağlayan diğer tedavileri içerir. İn hale glukokortikosteroidler günümüzde kullanılan en etkili kontrol edici ilaçlardır (1).

##### **1.1.7.1.1. Semptom giderici ilaçlar**

###### **1.1.7.1.1.1. Kısa etkili İnhaller $\beta$ 2-agonistler**

Salbutamol (albuterol), terbutalin, fenoterol, reproterol ve pirbuterol bu gruptaki ilaçlardır. Siklik AMP (cAMP) düzeyini artırarak düz kaslarda gevşeme sonucu bronkodilatasyon sağlarlar. Ayrıca mast hücrelerinden mediatör salgısını, mukosilier temizliği de engellediği çalışmalarda gösterilmiştir. Etkileri hemen başlar ve 4-6 saat süreyle devam eder. Akut astım atağında ilk tercih edilecek ilaç grubudur.

Hızlı etki etmesinden dolayı egzersize bağlı tetiklenmiş bronkospazmdan korunmak amacıyla egzersiz öncesi tedavide yararlıdır. Bu ilaçların en önemli yan etkileri taşikardi, iskelet kasında tremor, ajitasyon, baş ağrısı daha nadir olarak hiperglisemi ve hipokalemidir (1, 39).

#### **1.1.7.1.1.2. Antikolinerjikler**

Kısa etkili kullanılabilen antikolinerjik inhaler ipratropiyum bromürün, astımlı hastada semptom giderici etkisi inhaler  $\beta$ 2-agonistler kadar güçlü değildir. Akut astım atağında inhaler  $\beta$ 2-agonistle birlikte inhaler ipratropiyum bromürün kullanılması, akciğer fonksiyonlarında anlamlı bir ek düzelme ve hastaneye yatışta azalma oluşturmaktadır. Bu ilacın ağızda kuruluk ya da acı bir tat oluşumu gibi yan etkisi olabilir (1).

#### **1.1.7.1.1.3. Teofilinler**

$\beta$ 2-agonistlere göre daha az etkili bronkodilatör ilaçlardır. Etkin kan düzeyi ve toksik düzeyi birbirine yakın olduğundan kan düzeyi ölçümü gerektirebilir. Yan etkileri arasında konsantrasyon güçlüğü olması okul çağı çocuklarında sorun yaratabilir (50).

#### **1.1.7.1.2. Kontrol edici ilaçlar**

##### **1.1.7.1.2.1. İnhaled Kortikosteroidler**

Günümüzde persistan astımın kronik tedavisinde kullanılan en etkili antiinflamatuvar ilaçlardır. Pediatrik kullanımı 1973 yılında klinik çalışmalar ile başlamıştır. Ülkemizde piyasada beklametazon, budesonid, flutikazon ve siklesonid bulunmaktadır. İnhaled steroidler ve eşdeğer dozları Tablo 7’de verilmiştir.

**Tablo 7.** Çocuklarda inhale kortikosteroidlerin eşit etkin dozları

<b>İlaç</b>	<b>Düşük doz(mcg)</b>	<b>Orta doz(mcg)</b>	<b>Yüksek doz(mcg)</b>
Beklametazon dipropionat	100-200	>200-400	>400
Budesonid	100-200	>200-400	>400
Budesonid nebül	250-500	>500-1000	>1000
Siklesonid	80-160	>160-320	>320
Flutikazon	100-200	>200-500	>500
Flunisolid	500-750	>750-1250	>1250
Mometazon furoat	100-200	>200-400	>400
Triamsinolon asetonid	400-800	>800-1200	>1200

İnhale steroidlerin halen en etkili kontrol edici olmasının nedeni bronş dokusunda bulunan enflamatuar ve yapısal hücrelerin hepsine etkili olmasıdır. İnhale steroidler ile yapılan biyopsi çalışmaları hava yolunda enflamatuar hücre sayısı ve aktivasyonunu azalttığını göstermiştir. Ayrıca astımlı hastaların bronkoalveolar lavaj sıvısında saptanan eozinofil sayısı ve eozinofil katyonik proteini (ECP) azalttığını, aktive CD4+ T hücre sayısını azalttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Üç ay inhale steroid tedavisinin devamlılığı bozulmuş epiteli tamir ettiği, silialı epitel ve goblet hücresi oranının normale döndürdüğü saptanmıştır. Yine başka bir çalışmada inhale kortikosteroid kullanımı sonrası bazal membran kalınlığında azalma görülmüştür. Hafif persistan astımlı çocuklarda altı aylık budesonid tedavisi ile solunum semptomlarının azaldığı, balgam eozinofil sayısında azalma ve akciğer semptomlarında düzelleme saptanmıştır. Okul öncesi çocuklarda inhale steroidin yüksek risk grubu sık vizingi olan çocuklarda semptomları azalttığı gösterilmiştir fakat tedavi kesildikten sonra uzun dönem koruyucu etkinin devam edip etmediği bilinmemektedir (50).

İnhaller steroidlerin lokal yan etkileri orofaringeal kandidiyazis, ses kısıklığı (disfoni) ve üst solunum yolu iritasyonuna bağlı oluşan öksürüktür. Ölçülü doz inhaler kullanımında bu yan etkilerin sıklığı, hava haznesi (spacer) kullanılarak azaltılabilir (1).

İnhaler steroidlerin yol açtığı sistemik istenmeyen etkiler yüksek dozda uzun süre kullanımda ortaya çıkmaktadır. Çocuklarda düşük ve orta doz 100-400 mcg budesonide eş değer steroid kullanımı ulaşılacak hedef boy üzerinde herhangi bir etki yaratmamaktadır. Ancak daha yüksek dozlarda büyüme geriliğine yol açabilmektedir (1).

Glukokortikosteroidlerin çocuklarda kemik dokusu üzerinde klinik olarak önem taşıyan potansiyel istenmeyen yan etkileri osteoporoz ve kırık oluşumudur. İnhale kullanımının çocuklarda kırık riskinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış meydana getirdiğini bildiren çalışma bulunmamaktadır. Fakat oral ve sistemik kullanımı kırık riskini arttırmaktadır (1).

#### **1.1.7.1.2.2. Lökotrien modifiye edici ilaçlar**

Havayolundaki düz kas hücrelerinin kontraksiyonu için güçlü bir agonist olan lökotrienlerin sentezini veya etki etmesini engelleyen ilaç grubudur. Sisteinil

lökotrien 1 (CysLT1) reseptör antagonisti olan montelukast, pranlukast, zafirlukast ve 5-lipooksijenaz inhibitörü olan zileuton lökotrien modifiye edici ilaçlardır. Lökotrien antagonistleri hafif astımda monoterapi olarak kullanılabilir. İnhalasyonluk glukokortikosteroid tedavisine göre daha az etkinliğe sahiptir. İnhalasyonluk glukokortikosteroid tedavisi ile yeterli kontrol sağlanamayan çocuklarda eklemeli tedavi olarak uygulanabilir. Bu ilaçlarla bildirilmiş önemli bir yan etki bulunmamaktadır (1).

#### **1.1.7.1.2.3. Uzun etkili inhaler $\beta$ 2 agonistler**

Etkilerini cAMP üzerinden düz kaslarda dilatasyon oluşturarak gösterirler ve bu ilaçların çocuklarda 5 yaş üzerinde kullanımı önerilmektedir. Orta doz steroid tedavisi alanlarda semptomları kontrol altına almak için kombine tedavide yeri vardır. Ayrıca ilk tercih olmasa da egzersiz öncesi bronkospazmı önlemek için kullanımı bulunmaktadır. Bu ilaçların en önemli yan etkileri taşikardi, ajitasyon, tremor daha nadir olarak hiperglisemi ve hipokalemidir (1, 39).

#### **1.1.7.1.2.4. Mast hücre duvarı stabilizatörleri**

Sodyum kromoglikat, nedokromil sodyum çocuklarda uzun süreli astım tedavisinde sınırlı bir rol oynar. Konjunktivada, üst hava yollarında ve alt hava yollarında allerjene bağlı erken ve geç faz enflamatuvar yanıtı baskılar. Mukozal mast hücrelerinin bulunduğu her yerde etkilidir. Çocuklarda hafif persistant astımda düşük doz steroid tedavisine alternatif olarak önerilmektedir. Sodyum kromoglikat tedavisi alan hastaların küçük bir bölümünde öksürük, boğazda tahriş ve bronkokonstriksiyon meydana gelir. Nedokromilin en sık görülen yan etkileri ağızda kötü tat, baş ağrısı ve bulantıdır (1, 39).

#### **1.1.7.1.2.5. Fosfodiesteraz inhibitörleri**

Astım tedavisinde önceki yıllarda sıklıkla kullanılan bir diğer ajandır. Beş yaş üstü çocuklarda steroid tedavisine ek olarak verilmesi önerilmektedir. İnhalasyonluk glukokortikosteroidlere eklenen teofilinin astım kontrolünü düzelttiği ve inhalasyonluk veya oral kortikosteroidler ile tedavi edilen ağır astımlı çocuklarda gerekli olan glukokortikosteroid dozlarını azalttığı gösterilmiştir. Teofilin, adenosin reseptör antagonistidir. En sık görülen yan etkileri, bulantı kusma, iştahsızlık ve baş ağrısıdır. Onun dışında taşikardi, aritmi, konvülsiyon da görülebilir (1, 39).

#### **1.1.7.1.2.6. Anti-IgE antikor (omalizumab)**

Serbest IgE düzeylerini azalttığı, erken ve geç faz alerjik reaksiyonları azalttığı, astım semptomlarında düzelme sağladığı, akciğer fonksiyonlarını stabilize ettiği ve inhale steroid gereksinimini azalttığı gösterilmiştir. Parantral kullanımı, dokuya bağlanmış olan IgE üzerine etki yapmaması ve ağır astım atakları için önerilmesi kullanılacak hasta grubunu sınırlamaktadır (50).

#### **1.1.7.2. Astımlı hastalarda tedavinin izlemi**

Çocukluk çağı astımının yaklaşık %70'inde semptomlar üç yaşından önce başlar ve tedavi edilmediği durumda akciğerlerdeki kalıcı hasarların çoğu 6 yaşına kadar oluşur. Bu nedenle astım tedavisine en kısa zamanda başlanması önerilmektedir. Bu tedavi ile amaçlanan, alevlenmelerinin önüne geçilebilmesi, gündüz semptomların önlenmesi (haftada ikiden az), gece semptomunun olmaması, acil servise başvuruların ve hastane yatışlarının en aza indirgenmesi, akciğer fonksiyonlarının normal veya normale en yakın düzeyde tutulması, kısa etkili inhale  $\beta$ 2-agonist kullanımının en aza indirgenmesidir. Astım tedavisinin başlanması ve izleminde ağırlık derecesi yani şiddeti ve kontrol kavramları kullanılır (Tablo 5 ve 6). Hasta persistan astım olarak değerlendirilip, muayenede semptom saptanmamışsa 2. basamaktan tedaviye başlanabilir, ancak ilk değerlendirmede semptomlar kontrolsüz olarak düşünülürse tedaviye 3. basamaktan başlanması tercih edilir. Semptomlar kontrol altına alındıktan sonra 3 ay aralıklarla basamakların azaltılmasına gidilmelidir. Kontrol sağlanmadığı durumlarda basamak artırılmalıdır. Gereğinde kombine ilaç tedavisi seçilmelidir. Semptom kontrolü sağlandıktan sonra kombine tedavide öncelikle steroid dozu %50 azaltılmalı, düşük doza ulaşıldığında kombinasyon tedavisi kesilip sadece inhale steroid ile devam edilmelidir. Her basamaktaki tedavide gerektiğinde rahatlatıcı ilaçlar kullanılabilir (Tablo 8). İlk viziten 1-3 ay sonra ve her 3 ayda bir hastalar görülmelidir. Akut ataktan 2 hafta-1 ay sonra hasta kontrol edilmelidir (1, 39).

**Tablo 8.** Astımda Basamak Tedavisi (1)

1.basamak	2.basamak	3.basamak	4.basamak	5.basamak	6.basamak
Hasta Eğitimi ve Çevresel Kontrol					
İntermittan astım	Hafif persistan astım	Orta persistan astım	Ağır persistan astım		
Gerektiğinde kısa etkili $\beta$ 2 agonist	Düşük doz IKS	Düşük doz IKS +LABA	Orta doz IKS +LABA	Yüksek doz IKS +LABA	Yüksek doz IKS +LABA+oral steroid
	LTRA	Orta doz IKS	Orta doz IKS +LTRA	Yüksek doz IKS +LTRA	Yüksek doz IKS +LTRA+oral steroid
	Kromalin Nedokromalin	Düşük doz IKS +LTRA	Orta doz IKS +Teofilin	Yüksek doz IKS +Teofilin	Yüksek doz IKS +Teofilin+oral steroid
	Teofilin	Düşük doz IKS +Teofilin		Anti-IgE tedavisi (12yaş üzeri)	Anti-IgE tedavisi (12 yaş üzeri)

IKS: İnhal e kortikosteroid, LTRA: Lökotrien reseptör antagonisti, LABA: Uzun etkili  $\beta$ -agonist

## 1.2. Vitamin D

Vitamin D, güneş ışığı ile temas sonucu deride üretilen, yağda çözünen, steroid yapıda bir prohormondur. Vücutta çeşitli metabolik değişikliklerle kalsitriol olarak bilinen, kalsiyum ve fosfat metabolizmasında önemli rol oynayan bir hormona dönüşür (51).

Ulusal Sağlık ve Beslenme Araştırma Grubunun (NHANES) verilerine göre Amerika Birleşik Devletlerinde adölesan ve erişkinlerin ancak dörtte birinde vitamin D düzeyi yeterlidir ve çocukların %61'inde vitamin D yetersizliği mevcuttur (52).

Norman ve ark. (53)'nın yayınladığı vitamin D çalışma raporuna göre Kuzey Amerika ve Batı Avrupa'nın yaklaşık %50'sinde ve geri kalan dünyanın üçte ikisinde vitamin D eksikliği vardır.

### 1.2.1. Vitamin D Fizyolojisi

Vitamin D vücutta iki temel şekilde bulunmaktadır:

1) Kolekalsiferol veya Vitamin D<sub>3</sub> (güneş ışığı veya ultraviyole ışını etkisiyle deride yapılan formu)

2) Ergokalsiferol veya Vitamin D2 (güneşe maruz kalan bitkilerle veya bitki içerikleri ve yiyeceklerle alınan formu)

Vitamin D3 özellikle yaz aylarında ultraviyole ışını etkisiyle ciltte 7 dehidrokolesterolden yapılmakta veya besinsel kaynaklar (özellikle tirs balığı, uskumru, somon ve sardarya gibi yağlı balıklar, et, süt, yumurta sarısı) ile alınmaktadır. Vitamin D3'ün yapımını; ileri yaş, koyu cilt, güneş koruyucuların kullanımı ya da kapalı giyim kısıtlamaktadır. Vitamin D2 ise ergosterolün ultraviyole B ışını ürünü olarak bitkilerde bulunur. Aslında vitamin D hem D2 hem de D3'ü ifade eder.

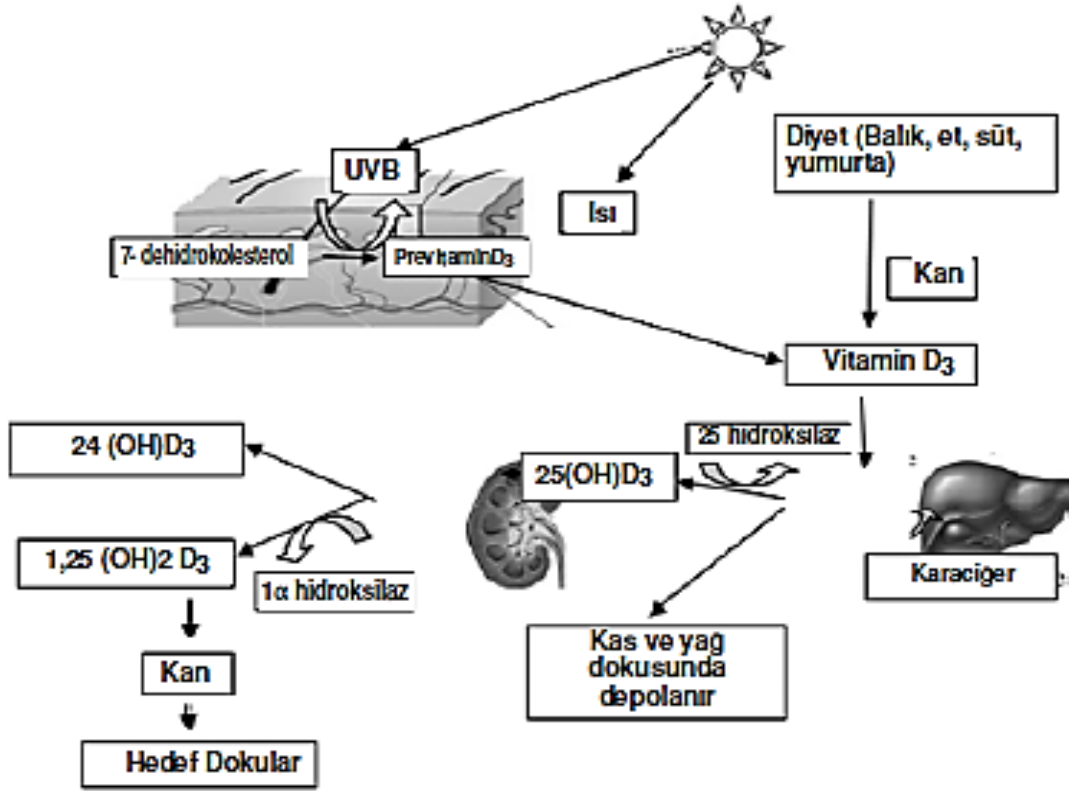
Diyetle alınan vitamin D2 ve vitamin D3 formları ince bağırsaklarda emildikten sonra şilomikronlarla birleşip lenfatik sisteme oradan da venöz dolaşıma katılmaktadır. Diyetle alınan veya endojen olarak sentezlenen vitamin D2 veya vitamin D3 yağ hücrelerinde depolanır ve gereğinde dolaşıma salınır. Vitamin D2 ve vitamin D3 biyolojik olarak aktif değildir. Vitamin D önce karaciğerde 25 hidroksilaz enzimi ile 25(OH)D şekline ve ardından böbreklerde 1 alfa hidroksilaz enzimi ile 1,25(OH)<sub>2</sub>D'ye hidroksillenmektedir ve bu aktif bir metabolittir. Kalsitriol diye de adlandırılan 1,25(OH)<sub>2</sub>D yeterli düzeye eriştiğinde, bunun üzerine eklenen kısmı böbreklerde 24 hidroksilaz enzimi ile 24,25 dihidroksivitamin D3 (24,25(OH)<sub>2</sub>D) şekline dönüştürülerek metabolize edilir. 25(OH)D, vitamin D'nin dolaşımdaki asıl formudur. İnaktif olan bu formun konsantrasyonu 1,25(OH)<sub>2</sub>D'nin yaklaşık 1000 katıdır (51, 54) (Şekil 1).

Vitamin D temelde karaciğerde olmak üzere kas ve yağ dokusunda da depo edilmekte ve yapımı negatif geri bildirim mekanizması ile kontrol edilmektedir. Kalsitriol, D vitamini eksikliğinde etkisiz halde bulunan ve kalsitriol ile tetiklenen sitokrom P-450 enzimleri ve 24 hidroksilaz enzimi ile metabolize edilir. Dolaşımda uzun süre kalsitriol bulunduğunda kalsitriölü metabolize eden enzimlerin aktivitesi artar ve gelişen hipokalsemi sonucu parathormon (PTH) yükselir. D vitamini ve metabolitleri albumine yapısal olarak benzeyen ve 24,25(OH)<sub>2</sub>D, 25(OH)D ve 1,25(OH)<sub>2</sub>D'ye karşı yüksek ilgi gösteren D vitamini bağlayıcı protein ile dolaşımda taşınırlar. Aktif metabolit olan 1,25(OH)<sub>2</sub>D hücre içine girer ve vitamin D reseptörü (VDR)'ne bağlanır. Bu bileşim retinoid reseptörleri ile heterodimer şeklindedir ve 24 hidroksilaz, kalsiyum bağlayıcı protein, osteokalsin gibi vitamin D'ye duyarlı gen ve



elementlere bağlanır. Bu bağlanma sonucu transkripsiyon ve translasyon olur ve osteokalsin veya kalsiyum bağlayıcı protein gibi proteinlerin yapımı gerçekleşir. 1,25(OH)<sub>2</sub>D'nin majör fonksiyonu plazma kalsiyum seviyesini düzenlemektir. Duodenumdan kalsiyum ve ileumdan fosfor emilimini artırır. Klasik etkisi barsak hücrelerinden kalsiyumun aktif emilimidir. Kalsiyum hücre zarı proteinlerine bağlanarak hücre içine girer. Barsak hücreleri içinde kalsitriol VDR'ye bağlanarak kalsiyum bağlayıcı proteini yapar, böylece hücre içine aktif geçiş sağlanır. Kalsiyumun hücre dışı sıvılardan hücre içine geçişi adenosin trifosfat (ATP) bağımlı mekanizmalarla (aktif geçiş) olurken, hücreler arası geçişi pasif yolla olur. En fazla kalsiyum emilimi D vitaminine bağımlı aktif geçiş ile olur. D vitamininden bağımsız olan pasif geçiş ise, kalsiyum alımıyla orantılı gelişen kalsiyum yoğunluğundaki farklılığa bağlıdır. D vitamini olmadığında diyetteki kalsiyumun ancak %10-15'i ve fosforun ise %60'ı emilebilmektedir. Vitamin D olduğunda ise bu oran kalsiyum için %30-40, fosfor için %80'e çıkar. 1,25(OH)<sub>2</sub>D klasik etkisini hedef organları olan kemik, böbrek ve barsakta bu organlardan kana kalsiyum geçişini uyararak göstermektedir. 1,25(OH)<sub>2</sub>D üretimi, PTH yapımını uyardığı ve PTH üzerine doğrudan veya kalsiyum aracılıklı PTH azalması yolu ile negatif geri bildirim etkisi vardır (54).

Vitamin D sentezinde kilit konumda olan 1 alfa hidroksilaz enzim aktivitesinin düzenlenmesinde PTH, kalsiyum, fosfor ve fibroblast growth factor 23 (FGF 23) rol oynar. Serum kalsiyum ve fosfor düzeylerinin düşmesi ve PTH düzeyi D vitamini üretimini artırır. Ancak, kemikten salınarak böbrek ve ince barsak hücrelerinde Na-PO<sub>4</sub> kotransportuna neden olan FGF 23 ise 1,25(OH)<sub>2</sub>D sentezini baskılar ve 24 hidroksilaz enzimini aktive ederek 1,25(OH)<sub>2</sub>D'nin inaktif forma dönüşmesine neden olur (51, 54).



Şekil 1. Vitamin D metabolizması (56)

### 1.2.2. D Vitamini Durumunun Değerlendirilmesi

Kan 25(OH)D düzeyi doku vitamin D durumunu gösteren en iyi göstergedir. Bu nedenle D vitamini eksikliklerini değerlendirmede kullanılan temel parametredir. 25(OH)D, vitamin D'nin dolaşımdaki major formudur ve yarı ömrü yaklaşık 2-3 haftadır. Plazma 1,25(OH)<sub>2</sub>D düzeyi eksiklik durumlarında normal hatta yüksek olabilir, bu nedenle vitamin D durumunu değerlendirmede kullanılmaz. Ancak vitamin D eksikliği, yetersizliği, yeterliliği ve toksik düzeyini belirleyecek sınır değerleri belirlemek güçtür. Son yıllarda yayınlanan çalışmalarda vitamin D eksikliği serum 25(OH)D düzeyi 20 ng/ml ve altında olması; vitamin D yetersizliği ise serum düzeyinin 21-29 ng/ml arasında olması şeklinde tanımlanmaktadır. Parathormonu aktive etmeyecek en düşük 25(OH)D düzeyi 30 ng/ml olarak belirlenmiştir (75 nmol/l). Vitamin D için yeterli düzey  $\geq 30$  ng/ml (75 nmol/l) olarak kabul edilmektedir (55) (Tablo 9).

**Tablo 9.** Serum 25(OH)D düzeyinin değerlendirilmesi

<b>Vitamin D durumu</b>	<b>Serum 25(OH)D düzeyi (ng/ml)</b>
Ağır vitamin D eksikliği	< 10
Vitamin D eksikliği	≤ 20
Vitamin D yetersizliği	21-29
Vitamin D yeterli	≥ 30
İntoksikasyon	> 150

### **1.2.3. Vitamin D ve İmmün Sistem**

Aktif D vitamini metaboliti olan 1,25(OH)<sub>2</sub>D'nin kalsiyum ve fosfor metabolizmasıyla ilgili işlevinin yanında pek çok biyolojik sistem üzerine etkisinin olduğu anlaşılmaktadır. 1988 yılında VDR klonlanmış ve nükleer reseptör ailesinin bir üyesi olduğu gösterilmiştir. Çeşitli dokularda VDR'nin olduğunun saptanması konuya yeni bir boyut kazandırmıştır. Bunlar arasında özellikle pankreas, deri, plasenta, beyin ve immün sistem hücreleri (periferal kan mononükleer hücreler ve aktive T hücreleri gibi) sayılabilir. D vitamini reseptörünün bulunmadığı dokular ise çizgili ve düz kaslardır. 1,25(OH)<sub>2</sub>D'nin sentezinden sorumlu olan enzim 25(OH)D 1 alfa hidroksilaz makrofajlar, dendritik hücreler ve T ve B lenfositlerde bulunur (57, 58).

Vitamin D, doğal immün sistemin antimikrobiyal fonksiyonlarını desteklerken, enflamatuar aktivitesini ve adaptif immün yanıtı başlatma kapasitesini azaltır. Kalsitriolün insan monositlerinde TLR2 (Toll-like reseptör 2) ve TLR4 ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir. TLR özgün olmayan patojeni tanıyan, erken enflamatuar immün yanıtın başlamasında önemli olan reseptörlerdir. Monositler üzerindeki TLR'lerin sayısının azalmasıyla bu reseptörlerinin aktivasyonu sonucu oluşan proinflamatuar TNF- $\alpha$  üretiminde de azalma olur ve enflamatuar yanıtta baskılanır (59).

Nötrofillerde, alveoler makrofajlarda ve keratinositlerde bulunan human cathelisin antimicrobial peptid-18 (hCAP-18) vitamin D'nin antimikrobiyal fonksiyonlarından sorumludur. hCAP-18 gen promotor bölgesi VDRE (Vitamin D responsive element) içerir ve kalsitriol çeşitli hücre dizelerinde bunun ekspresyonunu artırır. Vitamin D'nin düzenlediği diğer antimikrobiyal peptidler olan katyonik

peptidler, defensin-beta 2 ve 4'ün vitamin D tedavisi ile aktivasyonu sonucu solunum yolu patojenlerine karşı antimikrobiyal aktivite artmaktadır (59, 60).

Vitamin D'nin immün sistem hücrelerinde sitokin salınımı üzerine de etkili olduğu gösterilmiştir. Tsoukas ve ark. (61) yaptıkları bir çalışmada, pikomolar konsantrasyonda vitamin D'nin IL-2 aktivitesini ve mitojenle aktive edilen lenfositlerin proliferasyonunu azalttığı gösterilmiştir. Mahon ve ark. (58) aktif olan ve olmayan CD4+T lenfositlerinin VDRs ekspresyonunu tespit etmişlerdir. Ayrıca 1,25(OH)<sub>2</sub>D'nin Th1 ve Th2'nin proliferasyonunu, IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-5 üretimini azalttığı, IL-4 üretimini ise arttırdığı gösterilmiştir. Froicu ve ark. (62) VDR yok edilen fareler ile edilmeyen fareler karşılaştırıldığında yok edilen farelerde daha fazla IFN- $\gamma$  üretildiği ve IL-2, IL-4, IL-5'in üretiminde azalma olduğunu göstermişlerdir. Bir başka çalışmada (63) vitamin D'nin IFN- $\gamma$  üretimini inhibe ettiği, IL-4, IL-5 ve IL-10 üretimini ise arttırdığı gösterilmiştir. Bu çalışmalarda vitamin D'nin Th1 yanıtını baskımlarken, Th2 yanıtını arttırdığı ileri sürülmektedir (59).

Vitamin D'nin Th2 yanıtına inhibitör rol oynadığını gösteren çalışmalar da vardır. İnsan kord hücre kültüründe yapılan bir çalışmada CD4+ Th hücrelerine 1,25(OH)<sub>2</sub>D'nin etkileri değerlendirilmiştir. IL-4 tarafından indüklenen IL-4, IL-13 düzeyinde ve IL-12'nin indüklediği IFN- $\gamma$  üzerine inhibitör etki yaptığı gösterilmiştir (64). Matheu ve ark. (65) yaptıkları bir başka çalışmada, mürin modelinde pulmoner eozinofilik infiltrasyon oluşturulmuş; IL-4, IL-13 ve IgE üretiminde artışla birlikte allerjenin indüklediği T hücre proliferasyonu vitamin D ile erken dönemde desteklendiğinde bronkoalveoler lavaj sıvısında ve akciğer dokusunda eozinofil göçünde azalma ve IL-5 düzeylerinde düşme saptanmıştır (59).

Adaptif immüniteyle ilişkisi araştırıldığında vitamin D'nin özellikle DH'in diferansiasyonunu ve olgunlaşmasını inhibe ettiği gözlenmektedir. MHC sınıf-II ve kostimulatör moleküllerin (CD40, CD80, CD86) ekspresyonunu azaltmaktadır. IL-12 ve IL-23 sekresyonunu azaltmakta ve IL-10 salınımını arttırmaktadır. Ayrıca antijen sunan hücrelerin antijen sunumu özelliğini ve T lenfosit uyarı kapasitesini düşürmektedir. 1,25(OH)<sub>2</sub>D monositlerde proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu inhibe etmektedir. Bunlar IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-8 ve IL-12'dir. Dentritik hücrede oluşan bu sitokin paterni Th2 yönünde bir oluşumu ortaya çıkarmaktadır. İn vitro

çalışmalar VDR uyarıcılarının regülatör T lenfosit gelişimini artırdığını göstermektedir. Bu durum 1,25(OH)<sub>2</sub>D'nin tolerojenik yönde aktiviteye neden olduğunu desteklemektedir (57, 66).

Çalışmalarda gösterildiği gibi vitamin D'nin Th hücreler üzerindeki etkisinin Th1 fonksiyonunu baskılama ya da Th2'yi arttırma yönünde olup olmadığı çok net değildir ve vitamin D regülatuar T hücreleri üzerinde de etkili gözükmemektedir. Bu değişken sonuçların nedeni; alınan vitamin D miktarı, bazal vitamin D düzeyi ve maruziyetin zamanıyla ilişkili olabilir. Vitamin D'nin farmakolojik düzeylerde alınmasının, Th1 ve Th2 hücre aktivasyonunu inhibe edebileceğini düşündürmektedir (52).

#### **1.2.4. Vitamin D, Allerji ve Astım**

Astım ve allerjik hastalıkların sıklığında son birkaç dekada önemli oranda artış tespit edilmiştir. Allerjik hastalıkların gelişimindeki güçlü genetik ilişki bilinmesine rağmen bu artıştan çevresel faktörlerdeki değişiklikler de sorumlu tutulmaktadır. Bu artışı açıklayacak iki hipotez ileri sürülmüştür. Bunlar hijyen ve diyet hipotezleridir. Diyet hipotezi içerisinde antioksidanlar, lipitler, gıda tipleri ve diyet içeriği, anne sütü, probiyotikler ve intestinal flora, vitamin D ve maternal diyet araştırılmıştır (67).

Literatürde vitamin D ve astım arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalarda birbiriyle çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışmalarda vitamin D ve astım ilişkisi ile ilgili de iki hipotez öne sürülmüştür. Birinci hipotezde astım sıklığındaki artıştan yaygın olan vitamin D yetersizliğinin neden olabileceği ileri sürülmüştür (68). Black ve Scragg (69) 1988-1994 yılları arasında 14,091 kişide spirometre ile FEV1 ve FVC değerlerine ve serum 25(OH)D düzeylerini ölçerek yaptıkları bir çalışmada serum 25(OH)D düzeyi ile solunum fonksiyonları arasında pozitif bir ilişki olduğunu tespit etmişlerdir. Sağlıklı 2000 gebe üzerinde yapılan başka bir çalışmada hamile kadınlara gıda tüketim sıklığı anketi (Food Frequency Questionnaire, FFQ) yapılarak aldıkları vitamin D düzeyi 'International Units (IU)' olarak belirlenmiş, daha sonra bu annelerden doğan çocukların düzenli poliklinik takipleri yapılmış. Beş yaşında solunum fonksiyon testleri, diyet ve atopi durumları değerlendirilmiş ve gebelik boyunca düşük maternal vitamin D alımının 5 yaş civarında wheezing gelişimindeki artışla ilişkili olabileceği belirlenmiştir. Ancak

spirometri, ekshale edilen nitrik oksit konsantrasyonu arasında ilişki saptanmamış; bronkodilatör ilaca yanıtta ise sınırda bir azalma görülmüştür (70). Benzer şekilde 1194 hamile anne ve doğan çocukları üzerinde yapılan bir çalışmada ise gebelik süresi boyunca yüksek miktarda vitamin D alımının, erken çocukluk döneminde tekrarlayan hışıltı ataklarını azaltabileceği ileri sürülmüştür (71). Brehm ve ark. (72) Costa Rica'lı 6-14 yaş arasındaki 616 astımlı çocuğun serum vitamin D düzeyini değerlendirmişler ve hastaların %3,4'ünde vitamin D düzeyinde eksiklik, %28'sinde yetersizlik tespit etmişlerdir. Astım belirteçleri ve allerjinin şiddeti ile vitamin D düzeyi arasında negatif bir ilişki olduğunu bulmuşlardır. Bir diğer çalışmada besin ve takviyelerle alınan vitamin D ile çocuklarda beş yaşındaki astım ve allerjik rinit gelişim riski arasında negatif bir ilişki saptanmıştır (73).

Astım ve vitamin D arasındaki ilişkiyi değerlendiren ikinci hipotezde ise; son dönemlerde astım ve diğer allerjik hastalıkların artışından, rikets proflaksisi için vitamin D desteğinin artmasının neden olduğu düşünülmüş, bu durumdan vitamin D'nin Th2 cevabını etkileyerek sorumlu olabileceği ileri sürülmüştür (74). Bu konu ile ilgili yapılan bir çalışmada infant dönemi boyunca düzenli yüksek doz (>2.000 IU/gün) vitamin D desteği alan çocukların adolesan ve erişkin dönemi kapsayan uzun süreli takipleri yapılmış, 31 yaşına kadar allerjik rinit ve atopi gelişme riskinde artış tespit edilmiştir. Ancak bunun yüksek doz kullanım ile ilgili (doz-ilişkili etki) olabileceği belirtilmiştir (75). Ayrıca Gale ve ark. (76) yaptığı bir başka çalışmada, 596 hamile annenin serum 25(OH)D düzeyi ölçülmüş ve bu annelerden doğan çocukların 466 (%78)'si doğumda, 440 (%74)'i 9 aylık olduğunda, 178 (%30)'i 9 yaşına geldiğinde muayene edilmiş. Gebelik boyunca yüksek maternal serum vitamin D düzeyi (>30 ng/mL) ile 9 aylık dönemde egzema ve 9 yaş civarında ise astım gelişimi arasında bir ilişki bulunmuştur. Ancak bu çalışmada 9 yıllık takipte hastaların yalnızca %40'ı çalışmayı tamamlamıştır (76).

Vitamin D'nin solunum yolu enfeksiyonları ile ilişkisini inceleyen çeşitli çalışmalar da mevcuttur. D vitamini doğal ve adaptif immün sistem üzerine etkilidir. Özellikle solunum sistemi enfeksiyonlarında önemli rol oynamaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde 18,883 kişide yapılan bir çalışmada vitamin D düşüklüğünün üst solunum yolu enfeksiyonları ile güçlü ilişkisi olduğu bildirilmiştir (77). Ginde ve ark. (78) yaptıkları bir çalışmada, vitamin D yetersizliği ve astım arasında orta

düzeyde bir ilişki olduğunu ve bunun da hayatın erken döneminde geçirilen solunum yolu enfeksiyonlarında artış yoluyla olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Erken geçirilen viral solunum yolu enfeksiyonları, genetik olarak yatkın kişilerde astım gelişimini tetikleyebilir ve bu yolağın bir kısmı vitamin D yolu ile sağlanıyorsa astımın önlenmesi için bu yeni bir tedavi modeli oluşturabilir. Özellikle rinovirüsün neden olduğu viral solunum yolu enfeksiyonları, astım ataklarının %50-85'inden sorumludur. Astımlı kişiler enfeksiyonlarının alt solunum yolu düzeyine inmesine, uzamasına ve ağır seyretmesine daha yatkındırlar. Vitamin D'nin doğal immünitadaki rolü göz önüne alınacak olursa, solunum yolu enfeksiyonlarını azaltarak hem astımın başlamasına hem de atakları üzerine etkili olabileceği ileri sürülmektedir (78). NHANES'in verilerinde vitamin D düzeyi düşük olanlarda üst solunum yolu enfeksiyonları daha sık olarak saptanmış ve astımlılar da ise bu ilişki daha belirgin bulunmuştur. CoAst (Childhood Origins of Asthma) çalışmasında infant dönemde rinovirüs ilişkili hışıltı gelişen bebeklerde 6. yaşta astım gelişimi oranı yüksek bulunmuştur (79). CAMP (Childhood Asthma Management Program) çalışmasında 1024 orta ağır astımlı Kuzey Amerikalı çocuk değerlendirilmiş ve bu hastaların %35'inde vitamin D düzeyi yetersiz saptanmıştır. Düşük olanların dört yıllık izlem periyodunda acile başvuru sıklığının daha fazla olduğu belirlenmiştir (80).

Astımda kontrolün sağlanmasında da vitamin D'nin önemli rol oynayabileceği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Xystrakis ve ark. (81) tarafından yapılan bir çalışmada steroide dirençli astımlı hastalardan kan örneği alınmış ve elde edilen kültür ortamında CD4+T lenfositlerine deksametazon ve vitamin D eklenmiş. Bu hücrelerden IL-10 salınımını arttırdığı saptanmıştır. Yapılan bir başka çalışmada astımlı hastaların %47'sinde serum vitamin D düzeyi yetersiz saptanmış, vitamin D düzeyi ile kullanılan total steroid dozu ve IgE arasında ters yönde ilişki olduğu, solunum fonksiyonu (FEV1 ve FEV1/FVC) arasında ise pozitif bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Hastalardan alınan periferik kan hücrelerinden hazırlanan kültür ortamına tek deksametazon verilmesine göre, deksametazon (10 veya 100 nmol/L) ve 1,25(OH)<sub>2</sub>D (10 nmol/L)'nin birlikte verilmesinin mitojen aktive protein kinaz fosfataz 1 (MAPK-1) ve IL-10'da daha belirgin artış yaptığı saptanmıştır. Vitamin D ve deksametazonun birlikte uygulandığında doza bağlı olarak T hücre

populasyonunda önemli oranda süpresyon gözlenmiştir (82). Zhang ve ark. (83)'nın yaptıkları bir çalışmada steroidlerin antienflamatuvar mekanizmalarında rol oynayan yolakta bulunan bir protein olan mitojen aktive protein (MAP) aktivitesini vitamin D'nin arttırdığı saptanmıştır.

Vitamin D'nin anafilakside de nedensel rol oynayabileceği ileri sürülmüştür. Amerika Birleşik Devletleri'nin güney tarafına göre kuzey tarafında Epipen kullanma oranının daha yüksek olduğu saptanmıştır. Araştırmacılar bu durumun yüksek enlem bölgesinde yaşayanların güneş ışığına maruziyeti azaltabileceğini ve bunun da vitamin D düzeyini düşürdüğünü ileri sürmüşlerdir. Aynı çalışmada güneş ışığına yoğun temas ile ilişkili olan melanoma görülme sıklığı ile Epipen kullanımı arasında ters bir orantı olduğunu bulunmuştur. Bu da güneş ışığı ile temasın az olduğunu dolayısı ile vitamin D düzeyinin düşük olduğunu desteklediği öne sürülmüştür (84).

Son yıllarda diğer allerjik hastalıklarda olduğu gibi, artış gösteren gıda allerjisinde de vitamin D eksikliğinin ilişkili olabileceği öne sürülmüştür. Vitamin D eksikliğinin immün toleransı baskılayarak, enfeksiyonlara yatkınlığı arttırarak ve gastrointestinal yolakta antijenik maruziyetin en yüksek olduğu mukozal yüzeyde mikrobiyal yapıyı değiştirerek etkili olabileceği öne sürülmektedir (85).

Atopik dermatitli hastalarda Th2 yanıt ön plandadır, bu durum antimikrobiyal peptidlerin uygun salınımını engeller. Atopik dermatitli hastalarda antimikrobiyal peptitlerin düşük olması bakteriyel ve viral enfeksiyonlara cildin duyarlılığını arttırır. Oral vitamin D kalsitriol düzeylerini arttırarak etkili olabilir (86). Yapılan bir çalışmada, 14 atopik dermatitli çocuk ve 14 normal kontrol grubuna, 4000 U/günlük vitamin D3 vermişler ve kalsitriol düzeylerine bakmışlar. Atopik dermatitlilerde kontrol grubuna göre altı kat artış saptamışlardır. Ayrıca, keratinositler 25(OH)D'yi aktif form olan 1,25(OH)<sub>2</sub>D'ye çevirme kapasitesine sahiptir. Keratinositlerde yer alan CYP27B1 enzimi işlemi yapar. Bu enzim yaralanma ve enfeksiyonlarda artar. Yeterli substrat varlığında keratinositler lokal 1,25(OH)<sub>2</sub>D yaparak kalsitriol düzeyini arttırmaktadır (87).

### **1.2.5. Vitamin D reseptörü**

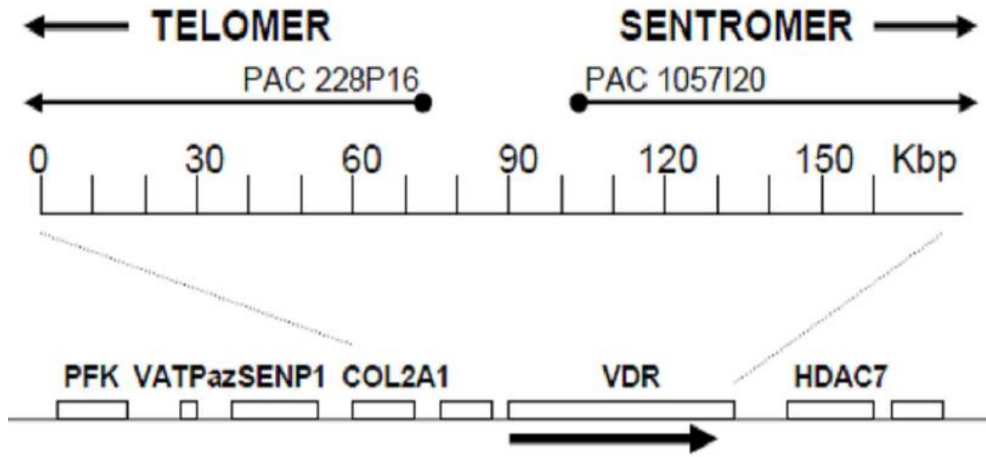
Vitamin D reseptörü, nükleer reseptör ailesinin bir üyesidir. 1,25(OH)<sub>2</sub>D çoğu biyolojik aktivitesini yüksek afiniteli reseptörü olan VDR'e bağlanarak gerçekleştirir.



Hücre siklusu, apoptoz ve hücre farklılaşmasını içeren pek çok kompleks genlerin transkripsiyonunu bu ligand reseptör kompleksi regüle etmektedir. Aktif vitamin D'ye ait reseptörler hipofiz, overler, deri, mide, pankreas, timus, meme, böbrek, paratiroid bezleri, periferik lökositler gibi birçok dokuda tanımlanmıştır (5, 88).

İnsan VDR cDNA'sı 1988 yılında klonlandıktan sonra VDR geninin genomik yapısının majör yapılarının tanımlanması yaklaşık 10 yılı bulmuştur ve Miyamoto ve ark. (89) tarafından tanımlanmıştır. VDR geni 12q13 kromozomunda lokalize 427 aminoasitten oluşan bir proteindir. 8 intron ve 9 eksondan oluşur. Fakat bazı kaynaklar 11 eksondan oluştuğunu belirtir. Bunun nedeni 5' ucunda bulunan I. eksonun IA, IB ve IC olarak isimlendirilmesinden kaynaklanır (5).

Vitamin D reseptörü lokusunun genom organizasyonu ile yapılan analizde, VDR geninin kendisinin oldukça büyük olup (100 kb den fazla), birçok dokuya spesifik transkripsiyon yapma yeteneği olan geniş promotor bölgesinin olduğu ve tip 2 kollajen alfa 1 (COL2A1) geninin hemen altında bulunduğu gösterilmiştir (Şekil 2) (5, 90, 91).

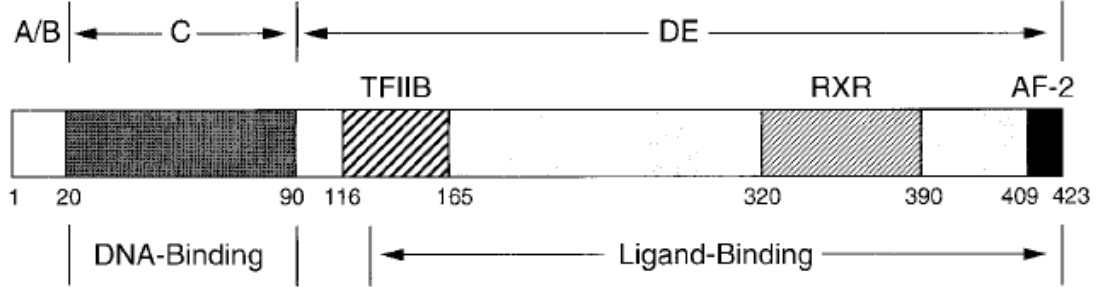


Ok ile VDR geninin transkripsiyon yönü gösterilmiştir. PFK: fosfofruktokinaz; VATPaz: Vaküolar ATPaz; SENP1= sentrin/SUMO'ya özgü proteaz; HDAC7=histon deasetilaz 7

**Şekil 2.** Kromozom 12q13.1 üzerindeki VDR-COL2A1 lokusunun genomik yapısı ve 228P16 ve 1057I20 PAC klonlarının pozisyonunun detaylı fiziksel haritası.

Diğer nükleer reseptörlerde olduğu gibi VDR'de çeşitli fonksiyonel domenlere ayrılmıştır. Vitamin D reseptörünün amino ucunda 20 aminoasit uzunluğunda A/B domeni (Ekson I) bulunur. Bunun hemen yanında C domeni denilen 20-90 arasında aminoasitten oluşan bir DNA bağlanma domeni (Ekson II-III), 90-130 aminoasit arası bir bağlayıcı bölge, 130-423 aminoasit arası bir ligand bağlanma bölgesi (Ekson

IV-IX) bulunur. Her reseptörde aktif vitamin D'nin bağlandığı bir bölge ve reseptörün DNA'ya bağlanmasını sağlayan iki parmak gibi çıkıntı yapan bölge ve bunları kararlı halde tutan birer çinko atomu bulunmaktadır (88) (Şekil 3).



Transkripsiyon faktörleri TFIIB ve RXR ile etkileşimi düşünülen reseptör bölgeleri gösterilmektedir. COOH-terminal AF-2 domeni siyah olarak gösterilmiştir (88).

**Şekil 3.** VDR protein yapısını meydana getiren fonksiyonel alanların şematik görünümü.

Vitamin D etkisinin ortaya çıkması aktif vitamin D ile reseptör etkileşimi ve sonrasındaki bir dizi reaksiyon sonucunda gerçekleşmektedir. Aktif vitamin D hedef hücre membranını kat eder ve hücre içinde ilgili nükleer reseptörle etkileşime girer ve böylece retinoik asit X reseptörü (RXR) ile bağlanır. Sonuçta, nükleusta “1,25(OH)<sub>2</sub>D-VDR-RXR“ birimlerinden oluşan bir kompleks oluşur ve sonra bu kompleks kromatinine bağlanır. Böylece, aktif vitamin D'nin bağlı olduğu kompleks, DNA üzerinde bulunan vitamin D cevap elemanı (VDRE, Vitamin D responsive element) olarak bilinen bölgeye bağlanır ve hedef dokuda hormon etkisinin son aşaması da gerçekleşmiş olur (88, 92).

### 1.2.6. VDR Gen Polimorfizmleri

Bir gen veya kromozomun bir toplumda iki veya daha fazla, sık rastlanan alellerinin varlığına polimorfizm denir ve alel sayısı arttıkça toplumda o gen için polimorfizm artar. Polimorfizmler insan genomunda bulunan genlerin fonksiyonlarını aşikar bir şekilde etkilemediği düşünülen ve toplumda genellikle %1'den daha yüksek sıklıkla rastlanan baz değişiklikleridir. Bu değişiklikler intronlarda, düzenleyici bölgelerde (ör; promotör bölgesinde), genin başında ve sonunda bulunan kodlamayan bölgelerde (UTR) veya kodlayan bölgelerde (ekson) bulunabilir. Bir veya daha fazla bazın diziye katılması (insersiyon), diziden baz eksilmesi (delesyon) veya bir bazın diğeri ile yer değiştirmesi (substitüsyon) sonucu

meydana gelebilir. Eksonlardaki polimorfizmler aminoasit dizilimini etkiliyor ise nonsinonim, eğer etkilemiyorsa sinonim olarak adlandırılır.

Polimorfizmler iki ana grupta incelenmektedir:

1. Tek nükleotid polimorfizmi (Single nucleotid polymorphism: SNP)
2. Değişen sayıda DNA dizilerinin tekrarı (Variable number tandem repeat: VNTR)

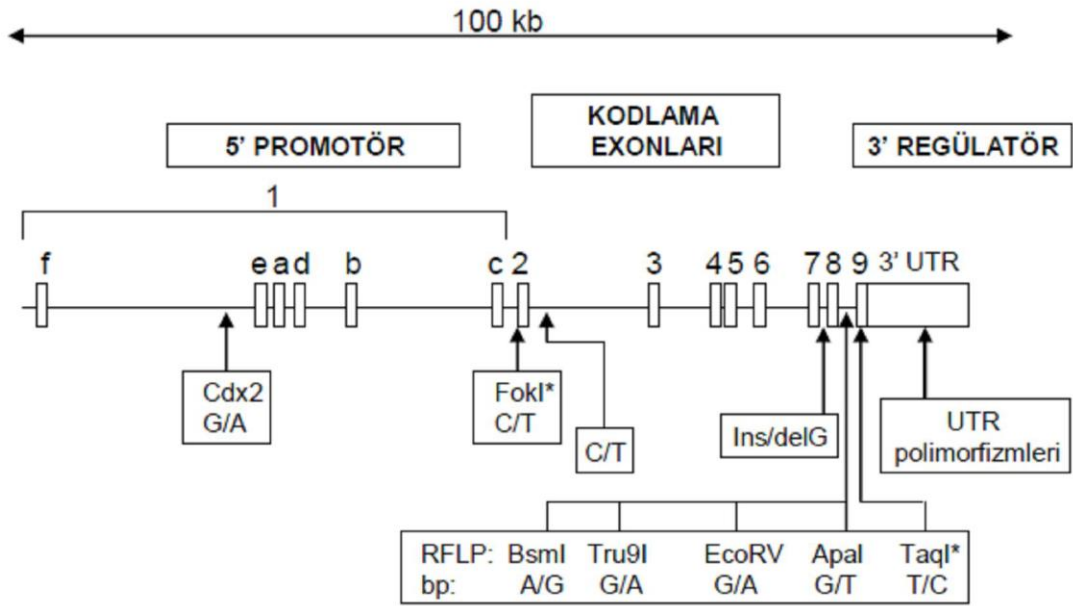
Tek nükleotid polimorfizmi, tek bir nükleotidin değişmesi ile meydana gelen ve insan genomunda en çok görülen polimorfizmlerdir. Tek nükleotid polimorfizmi genomda yaklaşık olarak her 1000 bazda bir tane olacak sıklıkla bulunurlar ve molekülün ekspresyon seviyesini veya protein yapısında meydana getirebileceği değişiklikler yoluyla da fonksiyonunu etkileyebilirler.

Bir polimorfizmin etkisi, o polimorfizmin yerleştiği yere bağlıdır. Genin kodlanan bölgesinde bir farklılık meydana geliyorsa, protein dizisi etkilenebileceğinden protein yapısı ve fonksiyonu değişebilir. Proteini kodlayan bölgenin dışında, genin sonundaki düzenleyici bölgede veya intronik dizilerde de pek çok nükleotid değişiklikleri görülebilir. Genin promotor bölgesinde transkripsiyon faktörlerinin bağlanması için uygun DNA motifleri vardır ve bu bölgede meydana gelen polimorfizmler transkripsiyon faktörlerinin bağlanmalarını veya bağlanma etkinliklerini değiştirebilir. Bunun etkisiyle de genin transkripsiyon aktivitesi artabilir veya azalabilir. mRNA kopyasının kalıcılığını ve dayanıklılığını 3'UTR bölgesi etkilemektedir ve bu bölgedeki polimorfizmler, mRNA kalıcılığını düzenleyen proteinlerin mRNA'ya bağlanmasını ve sentez edilen protein miktarının değişmesine sebep olabilir (5, 93, 94).

İnsan popülasyonunda doğal olarak birçok VDR gen polimorfizmi oluşmaktadır ve ırklar, etnik gruplar arasında önemli farklar bulunur. Bunların ekspresyonları azalmış kemik yoğunluğu, hiperparatiroidiye yatkınlık, hiperkalsiüri, vitamin D tedavisine direnç, enfeksiyonlara, otoimmün hatalıklara, kansere yatkınlık ile ilişkilidir (95).

Ekzonik bölgede bulunan ve proteindeki aminoasit dizilimini değiştirmeyen polimorfizmler sinonim polimorfizmler olarak adlandırılmaktaydı. Bu polimorfizmler sıklıkla bir gendeki belirli bir restriksiyon enzimi için kesme bölgelerini yok ederler veya yeni kesme bölgeleri oluştururlar. Bir genin bu

restriksiyon enzimleri ile muamele edilmesi sonucunda polimorfizmin ve bunun etkilediği kesme bölgesi değişikliklerinin varlığına bağlı olarak değişik uzunluklarda nükleotid dizileri ortaya çıkar. Buna restriksiyon fragman uzunluk polimorfizmi (Restriction Fragment Length Polymorphism=RFLP) adı verilir. Diğer genlerde olduğu gibi VDR içinde birçok RFLP saptanmıştır. VDR'ye ilişkin sıklıkla kullanılan RFLP'ler; Ekzon 2 üzerinde rs2228570 veya Fok 1, İntron 8 üzerinde rs1544410 veya Bsm 1, Ekzon 9 üzerinde rs731236 veya Taq1, İntron 8 üzerinde rs7975232 veya Apa 1, Tru91 ve EcoRV'dir (5, 94) (Şekil 4).



\* Bu polimorfizmlerin kodlama dizisinde olduğunu belirtmektedir (5).

**Şekil 4.** VDR geninin exon-intron yapısı ve bilinen polimorfizmlerin pozisyonu.

#### 1.2.6.1. Fok1 Polimorfizmi

Fok1 polimorfizmi genin 2. ekzonunda bulunur. Baz değişikliği başlangıç kodonu (ATG) içindedir ve T ile C değişikliği olur (ATG/ACG). Çalışmalar diğer VDR polimorfizmleri ile bağlantı dengesizliği (linkage disequilibrium=LD) göstermediğini ortaya koymaktadır. Fonksiyonel bir mutasyondur.

Bu polimorfizmin F aleli (C aleli) 424, f aleli (T aleli) 427 aminoasit uzunluğunda protein kodlar. Kısa, 424 aminoasitlik proteinin transkripsiyonel aktivite açısından daha aktif olduğu ileri sürülmektedir (5, 96).

### **1.2.6.2. 3' UTR Polimorfizmleri (Bsm1, Apa1, Taq1)**

BsmI, ApaI, TaqI polimorfizmleri genin 3' UTR bölgesinde 8. intronda ve 9. ekzonda bulunurlar. Yapılan çalışmalar bu polimorfizmlerin bağlantı dengesizliği (LD) gösterdiklerini ortaya koymaktadır (97). Bunlar fonksiyonel olmayan polimorfizmlerdir (5).

TaqI polimorfizmi VDR geninin 3' ucunda kodon 352'de nükleotid değişimine neden olur. Oluşan her iki kodon da izolösini kodlamaktadır. Sessiz bir kodon değişikliği olduğundan VDR fonksiyonunu değiştirmeyeceği düşünülmektedir (98, 99).

Bsm1 ve Apa1 bölgeleri vitamin D reseptör geninin bir intronunda lokalizedir ve intronik dizideki değişimlerin protein ekspresyonunu etkileyebileceği düşünülmektedir. Literatürde bu polimorfizmler ile hastalıklar arasındaki ilişki hakkında yapılmış birçok çalışma mevcuttur (100).

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmaya Fırat Üniversitesi Hastanesi Çocuk Allerji ve İmmünoloji Polikliniğine başvuran 5-18 yaş arasındaki astım tanısı alan 60 çocuk hasta çalışma grubu olarak alındı. Çalışma grubu, deri testi pozitif olan allerjik hastalar (grup I) ve deri testi negatif olan nonallerjik hastalar (grup II) olarak iki gruba ayrıldı. Genel Çocuk Polikliniğine rutin izlem amacı ile başvuran kronik hastalığı olmayan, tamamen sağlıklı aynı yaş grubundaki 40 çocuk ise kontrol grubu (grup III) olarak çalışmaya dahil edildi. Astım tanısı GINA (Global Initiative for Asthma) rehberine göre koyuldu.

### 2.1. Çalışmaya kabul kriterleri

- 1- Astım tanısı alması
- 2- 5-18 yaş arasında olması
- 3- Şiddetli astımının olmaması
- 4- Hastada herhangi bir kronik hastalığın (hipertansiyon, bronşektazi, tüberküloz, kistik fibrozis, otoimmünite, malignite vb.) bulunmaması

### 2.2. Çalışma düzeni

Çalışma öncesi Tıp Fakültesi Etik Kurulundan 31/05/2012 tarih ve 10/02 sayılı kurul kararı alındıktan sonra çalışmaya katılan tüm ailelere çalışma hakkında bilgi verilerek aydınlatılmış onam belgesi alındı (Ek 1). Haziran 2012-Temmuz 2013 tarihleri arasında çalışma yürütüldü. Hastaların mevsimsel dağılımı kış 'aralık-mayıs' ve yaz 'haziran-kasım' şeklinde ikiye ayrıldı. Çalışmada yer alan her katılımcının anamnez, fizik muayene, laboratuvar parametrelerinin yazılı olduğu bir form dolduruldu (Ek 2).

Çalışmaya katılan çocukların yaş, cinsiyet, boy, kilo, boy ve kilo persentili, vücut kitle indeksi (VKİ) kaydedildi. Kan tetkiklerinde kalsiyum (Ca), fosfor (P), alkalin fosfat (ALP), magnezyum (Mg), PTH, vitamin D (vitD), immünglobulin E (IgE), absolü eozinofil sayısı (AES), eozinofil yüzdesi (Eoz%) parametrelerine bakıldı. Çocuklara solunum foksiyon testi, deri testi yapıldı ve fraksiyone ekshale nitrik oksit düzeyi (FeNO) ölçüldü. Katılımcılara astım başlama yaşı, anne, baba ve kardeşte astım olup olmadığı, süt çocukluğu döneminde rutin D vitamini (400 IU/gün) kullanıp kullanmadığı, süt çocukluğu döneminde anne sütü alıp almadığı

soruldu. Ayrıca hastanın kullandığı ilaç olup olmadığı, şimdiye kadar kaç astım atağı geçirdiği ve bu ataklarda yatarak mı yoksa ayakta mı tedavi aldığı, doğum öyküsü (sezeryan veya normal doğum), kronik hastalığı olup olmadığı, atopik dermatit öyküsü olup olmadığı sorularak kaydedildi.

### **2.3. Solunum fonksiyon testi**

Çalışmaya katılan tüm çocuklara Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Pediatrik Allerji ve İmmünoloji laboratuvarında standart bir spirometre (ZAN 100 spiromed, Flowhandy, Germany) cihazı ile solunum fonksiyon testleri yapıldı. Solunum fonksiyon testi verileri hastalar dinlendirildikten sonra burun kapalı vaziyette kişinin spirometre cihazına sakin solunum yaparken, hızlı ve zorlu inspirasyonu takiben yine hızlı ve zorlu ekspirasyon yaptırılarak elde edildi. FEV<sub>1</sub>, FVC, FEV<sub>1</sub>/FVC, PEF ve MEF 25-75 parametreleri değerlendirildi.

### **2.4. Deri testi (Prick testi)**

Çalışma grubundaki tüm hastalara 32 adet ticari allerjen ekstresi (ağaç, ot/hububat ve yabancı ot polenlerini, mantar sporlarını, ev tozu akarlarını, hayvan tüyü ve epitellerini ve besin antijenini içeren) kullanılarak prick (delme) yöntemi ile deri testi uygulandı (Stallergenes SA, Antony, France). Hastalardan deri testinden önce, testi baskılayan ilaçları önerilen sürelerde kullanmamaları istendi. Pozitif kontrol için 10 mg/mL'lik histamin, negatif kontrol olarak serum fizyolojik (SF) kullanıldı. Test, iyice temizlenmiş ön kolun iç yüzüne uygulandı ve standart delme sağlamak için ALK prick lanset veya multitest aplikatör kullanıldı. Reaksiyonlar 15-20 dakika sonra aynı kişi tarafından okundu. Deri testinin değerlendirilmesi endurasyon çapına göre yapıldı ve  $\geq 3$  mm değerler pozitif kabul edildi (Reaksiyon derecesi ölçümü ödem plağı ve hipereminin çapına göre yapıldı).

### **2.5. Fraksiyone ekshale nitrik oksit ölçümü**

Portabl nitrik oksit analizör (NIOX MINO Airway Inflammation Monitor; Aerocrine AB; Solna, Sweden) cihazı ile tek soluk verme esnasında 0,05 L/sn ekshalasyon akım hızında ölçülmüştür. Ölçüm birimi milyardaki parça miktarı (parts per billion: ppb) olarak ifade edilir. Hastalara rahat oturur pozisyonda ağız parçasından 2-3 saniye boyunca ağızlık aracılığı ile 'NO-free hava' inhalasyonu

yaptırılmıştır. Sonra nefesini tutmadan 0,05 L/sn'lik akım hızı ile ağız parçacığı tarafından oluşturulan 5 cmH<sub>2</sub>O'luk basınca karşı nefesini vermesi istenmiştir. Serbest havanın inspirasyonunu takiben, hemen sonra aparat içine ağızlık aracılığıyla tam bir ekshalasyon yaptırılmıştır. Ekshalasyon sırasında burun kapatılmayarak nazal hava ile kontaminasyon önlenerek, paranazal sinüsten kaynaklanan nazal havadaki NO'nun yüksek içeriğinin katkısı engellenmiştir. Plato konsantrasyonuna ulaşmak için ekshalasyon süresi 6 saniye üzerinde tutulmuştur.

## **2.6. Genetik Analizler**

Katılımcılardan rutin tetkikleri sırasında vitamin D reseptör gen polimorfizmi ve vitamin D reseptör gen ekspresyonu için K-EDTA'lı tüplere toplam 2 cc kan alındı ve kan örnekleri tetkik anına kadar -80°C'de saklandı. Genetik analizler Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Genetik Laboratuvarında çalışıldı.

### **2.6.1. Polimorfizm Çalışma Yöntemi**

Vitamin D reseptör geni için 3 polimorfizm bakıldı:

- 1.Apa1 (rs7975232)
- 2.Taq1 (rs731236)
- 3.Fok1 (rs2228570)

Polimorfizmler için hastalarımızın kan örneklerinden Pure Link Genomic DNA izolasyon kiti (Katalog No: K182002, İnvitrogen, Carlsbad, CA, USA) kullanılarak DNA izolasyonu yapıldıktan sonra, TaqMan problemleri kullanılarak ABI Prism StepOnePlus™ Real Time System (Applied Biosystems, Foster City, CA) cihazında çalışıldı.

**Periferik kandan DNA izolasyon protokolü aşağıdaki basamaklardan oluşmaktadır:**

1. EDTA'lı tüplere alınan periferik kandan 200 µl alınıp 2ml kapasiteli eppendorf tüpüne aktarıldıktan sonra bunun üzerine 20 µl Proteinaz K ve 20µl RNAaz A ilave edildi.

2. Karışım 10-15 saniye karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra üzerine 200 µl *Pure Link Genomic Lysis Buffer* eklendi ve yine 10-15 saniye karıştırıcıda karıştırıldı.



3. Karışım, önceden 55°C'ye ayarlanan su banyosuna 10 dakika için inkübasyona bırakıldı.

4. İnkübasyon sonunda, karışımın üzerine 200 µl Etanol eklendi ve 5 saniye karıştırıldı.

5. Eppendorf tüpün içinde bulunan örneğin tamamı toplama tüpü içine yerleştirilmiş filtreli tüpün (DNA'yı bağlamaya yarar) içine pipet ile aktarıldı.

6. 10000 devir/dakika'da 1 dakika santrifüj edildi.

7. Santrifüj sonrasında filtreli tüp yeni bir toplama tüpüne aktarıldı.

8. Filtreli tüpün üzerine 500 µl inhibitör uzaklaştırıcı çözeltisi (*Wash Buffer-1*) eklendi.

9. 10000 devir/dakika'da 1 dakika santrifüj edildi.

10. Santrifüj sonrasında filtreli tüp yeni bir toplama tüpüne (*pure link collection tube*) aktarıldı.

11. Tüpün üzerine 500 µl yıkama çözeltisi (*Wash Buffer-2*) eklendi ve 15000 devir/dakika'da 3 dakika santrifüj edildi.

12. Toplama tüpleri atılarak yerine 1,5 µl'lik mikro santrifüj tüpü eklendi ve 55°C'ye ayarlanmış su banyosunda ısıtılmış olan çözdürme çözeltisinden (*Elution Buffer*) 100 µl ilave edilerek oda ısısında 1 dakika bekletildi.

13. 15000 devir/dakika'da bir dakika santrifüj edildi.

14. Santrifüj sonrasında filtreli tüp atıldı. Eppendorf tüpünde geri kalan çözelti saflaştırılmış genomik DNA olarak elde edilmiş oldu.

#### **TaqMan Probları ile Genotiplendirme:**

Hasta DNA'larında VDR genine ait rs2228570, rs731236 ve rs7975232 polimorfizmleri, TaqMan problemleri kullanılarak ABI Prism StepOnePlus™ Real Time System (Applied® Biosystems, Foster City, CA) cihazında çalışıldı.

Çalışılan polimorfizmlere ait assay ID numaraları:

rs7975232 Assay ID: C\_28977635\_10

rs731236 Assay ID: C\_2404008\_10

rs2228570 Assay ID: C\_12060045\_20

#### **Apa1 (rs7975232) polimorfizminin dizisi:**

AAG GCA CAG GAG CTC TCA GCT GGG C[A/C]C CTC ACT GCT CAA TCC  
CAC CAC CCC şeklindedir.

C alleli FAM, A alleli ise VIC floresan boya ları ile işaretlenmiş forward ve reverse primerleri iermektedir.

**Taq1 (rs731236) polimorfizminin dizisi:**

TGG ACA GGC GGT CCT GGA TGG CCT C[A/G]A TCA GCG CGG CGT CCT GCA CCC CAG şeklinde dir.

G alleli FAM, A alleli ise VIC floresan boya ları ile işaretlenmiş forward ve reverse primerleri içermektedir.

**Fok1 (rs2228570) polimorfizminin dizisi:**

GGA AGT GCT GGC CGC CAT TGC CTC C[A/G]T CCC TGT AAG AAC AGC AAG CAG GCC şeklinde dir.

G alleli FAM, A alleli ise VIC floresan boya ları ile işaretlenmiş forward ve reverse primerleri içermektedir.

Çalışmanın ilk aşamasında her bir hastanın DNA'sı nanodrop cihazında (Maestrogen, MaestroNanodrop, USA) llerek DNA konsantrasyonlarının 1-10 ng olmasına dikkat edildi. Buz zerinde PCR reaksiyon miksi hazırlandı.

**Tablo 10.** PCR reaksiyon miksi

PCR reaksiyon miksi:	
TaqMan Genotyping Master Miks	: 5 $\mu$ l
TaqMan genotyping assay (40 $\times$ )	: 0,25 $\mu$ l
DNase-free, RNase-free su	: 2,75 $\mu$ l
Toplam	: 8 $\mu$ l

Doksan altı kuyucuklu plate'in her bir kuyucuğuna sırasıyla her örnekten 2  $\mu$ l DNA konuldu. DNA'ların üzerine, hazırlanmış olan PCR reaksiyon miksinden 8  $\mu$ l ilave edilerek toplamda 10  $\mu$ l'lik reaksiyon hacmi oluşturuldu. Plate'in üzeri optical film ile kapatıldı ve santrifüj yapıldı. Plate, StepOnePlus<sup>TM</sup> Real Time System cihazına yerleştirildi. Aşağıda verilen programa göre 40 döngü olacak şekilde PCR programı çalıştırıldı.

- 60 C<sup>o</sup>'de 30 sn
- 95 C<sup>o</sup>'de 10 dak
- 95 C<sup>o</sup>'de 15 sn
- 60 C<sup>o</sup>'de 1 dak
- 60 C<sup>o</sup>'de 30 sn

Cihazın software sistemi kullanılarak allel 1 ve allel 2 ayırımına göre homozigot mutant, heterozigot ve homozigot normal genotipler belirlendi.

#### **Apa1 (rs7975232) bölgesi**

CC: Homozigot normal, CA: Heterozigot, AA: Homozigot mutant olarak değerlendirilmiştir

#### **Taq1 (rs731236) bölgesi**

TT: Homozigot normal, TC: Heterozigot, CC: Homozigot mutant olarak değerlendirilmiştir

#### **Fok1 (rs2228570) bölgesi**

TT: Homozigot normal, TC: Heterozigot, CC: Homozigot mutant olarak değerlendirilmiştir

### **2.6.2. Ekspresyon Çalışma Yöntemi**

Elde edilen DNA örnekleri önce kandan spin-kolon yöntemi ile çalışan bir RNA izolasyon kiti ile kitin protokolü aynen uygulanarak ayrıştırılmıştır (Invitrogen Ambion® RNA Mini Kit- Katalog No: 12183018A, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). RNA izolasyon kiti kullanılmadan önce kırmızı kan hücreleri RBC Lysis Buffer (eBioscience Katalog No: 00-4333-57) kullanılarak yok edilmiş ve en yüksek seviyede beyaz kan hücreleri kullanılmıştır.

Çalışmaya başlamadan önce hazırlananlar;

- 100 µl Lysis Buffer başına 1 µl B-mercaptoethanol eklenir. (Örneğin; 1000 µl Lysis Buffer +10 µl B-mercaptoethanol)
- %75 etanol hazırlandı: 10 ml kadar %75 etanol ihtiyacımız vardı;
- %100 etanol x A ml = %75 etanol x 10 ml (A ml = 7,5 ml. 7,5 ml %100 etanol alındı. 10 ml'ye tamamlamak için 2,5 ml RNase free water eklendi)
- 60 ml %100 etanol Wash Buffer II'ye eklendi.

#### **Ambion RNA İzolasyon Protokolü (Kan) Katalog No: 12183018A**

- 1- -80'den çıkarılan kanın çözülmesi beklenir.
- 2- 500 µl kan +900 µl Sigma Red Blood Cell Lysis buffer 2 mL santrifüj tüpüne koyulur.
- 3- 15.000 x g'de 1 dakika oda sıcaklığında santrifüj edilir.
- 4- Supernatant atılır ve beyaz presipitat vortekslenir.
- 5- 2, 3 ve 4. Basamaklar tekrarlanır ve beyaz presipitatlar karıştırılır.

- 6- 600µl Lysis Buffer (%1 B-mercapthoethanol eklenmiş), kanın bulunduğu santrifüj tüpüne koyulur.
- 7- Miks, enjektörle 8 kez çekilip bırakılır.
- 8- 2 dakika 12.000 x g'de santrifüj edilir.
- 9- Supernatant, 2 mL'lik RNase-serbest santrifüj tüpüne aktarılır.
- 10- 600 µl %100 etanol, santrifüj tüpüne aktarılır ve vortekslenir.
- 11- Kalan parçacıklarla beraber, 600 µl etanol+miks karışımı, koleksiyon tüpe bağlı spin kartuşa aktarılır.
- 12- Spin kartuş, 15 saniye 12.000 x g'de oda sıcaklığında santrifüj edilir. Koleksiyon tüp boşaltılır ve spin kartuş aynı koleksiyon tüpüne eklenir.
- 13- 11 ve 12. basamaklar tekrar edilir.
- 14- 700 µl yıkama tamponu (Wash Buffer I), spin kartuşa eklenir.
- 15- 15 saniye 12.000 x g'de oda sıcaklığında santrifüj edilir.
- 16- Koleksiyon tüp atılır. Spin kartuş yeni bir koleksiyon tüpe bağlanır.
- 17- 500 ul Wash Buffer II (etanol eklenmiş) spin kartuşa eklenir.
- 18- Spin kartuş, 15 saniye 12.000 x g'de oda sıcaklığında santrifüj edilir.
- 19- Koleksiyon tüpün içindeki sıvı boşaltılır ve spin kartuş aynı koleksiyon tüpüne yerleştirilir.
- 20- 17, 18 ve 19. basamaklar tekrar edilir.
- 21- Spin kartuş, 1 dakika 12.000 x g'de oda sıcaklığında santrifüj edilir
- 22- Koleksiyon tüp atılır. Spin kartuşlar kurtarma (recovery) tüplere yerleştirilir.
- 23- 20 µl RNase su eklenir.
- 24- 1 dakika oda sıcaklığında beklenir.
- 25- Spin kartuş, 2 dakika 12.000 x g'de oda sıcaklığında santrifüj edilir.
- 26- İzole edilmiş RNA, kurtarma tüpün içindedir.

### **RNA Konsantrasyonunun Hesaplanması**

İzolasyonu yapılan RNA'ların miktarı Qubit cihazı (Invitrogen, Carlsbad, CA) kullanılarak ölçüldü. Ölçüm değeri 2 µg/ml'nin altında olan örnekler çalışmaya dâhil edilmedi. Toplam 55 örneğin ( 15 allerjik hasta, 23 nonallerjik hasta ve 17 kontrol) RNA miktarları çalışma için uygun olarak tespit edildi.

### **cDNA Sentezi**

Her bir örneğin RNA konsantrasyonuna göre cDNA sentezi için kullanılacak RNA miktarı hesaplanarak DNase-RNase-free su ile 10 µl'lik hacim oluşturuldu. High Capacity cDNA sentez kiti (Invitrogen, Carlsbad, CA) kullanılarak cDNA sentezi gerçekleştirildi.

**Tablo 11.** cDNA sentezi için master miksi

cDNA sentezi için master miksi:	
10xbuffer	:2 µl
dNTP	:0,8 µl
Random primer	:2 µl
Revers transkriptaz	:1 µl
Su	:4.2 µl
Toplam	:10 µl

Her bir RNA örneğinden 10 µl alındı ve üzerine cDNA master miksinden 10µl paylaşılırak toplam 20µl hacim elde edildi. Tüpler PCR cihazına yerleştirilerek cDNA sentezi gerçekleştirildi.

### **Real Time-PCR**

Elde edilen cDNA'lar ile Beta Aktin (Housekeeping gen) ve VDR gen ekspresyonlarını analiz etmek için Tag Man Ekspresyon Assay'leri (Invitrogen, Carlsbad, CA) kullanılarak Real-Time PCR yapıldı.

**Tablo 12.** Real Time PCR Master miksi

Real Time PCR Master miksi:	
TaqMan Ekspresyon Master Miks	: 10 µl
TaqMan ekspresyon assay (40X)	: 1 µl
DNase-free, RNase-free su	: 7 µl
Toplam	: 18 µl

Doksanaltı kuyucuklu plate'in her bir kuyucuğuna sırasıyla her örnekten 2 µl cDNA konuldu. cDNA'ların üzerine, hazırlanmış olan PCR reaksiyon miksinden 18 µl ilave edilerek toplamda 20 µl'lik reaksiyon hacmi oluşturuldu. Plate'in üzeri optical film ile kapatıldı ve santrifüj yapıldı. Plate, StepOnePlus Real Time cihazına yerleştirildi. Aşağıda verilen programa göre 40 döngü olacak şekilde PCR programı çalıştırıldı. Her örnek çift tekrarlı olarak çalıştırıldı.

- 50 C°'de 2 dak
- 95 C°'de 10 dak
- 95 C°'de 15 sn
- 60 C°'de 1 dak

55 örnekte VDR geninin ekspresyonları  $2^{-\Delta\Delta CT}$  değerleri kullanılarak karşılaştırıldı.

### **2.7. İstatistiksel Değerlendirme**

İstatistiklerin hazırlanmasında SPSS for Windows 21.0 paket istatistik programı (SPSS Inc. Chicago IL USA) kullanıldı. Parametreler arası ilişkiler Pearson korelasyon analizi kullanılarak değerlendirildi. Hasta ve kontroller genotip ve allel sıklıklarının dağılımı Ki-kare analizi ile yapıldı. Gruplar arası farkların değerlendirilmesinde non-parametrik bir test olan Mann-Whitney-U testi ve gen ekspresyonlarının karşılaştırılması için Post Hoc Tukey testi kullanıldı. Değerlendirmelerde  $p < 0,05$  olan değerler istatistiki olarak anlamlı kabul edildi.

### 3. BULGULAR

Araştırmaya Fırat Üniversitesi Hastanesi Çocuk Allerji ve İmmünoloji Polikliniğine başvuran 5-18 yaş arasındaki astım tanısı alan 60 çocuk hasta çalışma grubu olarak alındı. Çalışma grubu, deri testi pozitif olan allerjik hastalar (grup I) ve deri testi negatif olan nonallerjik hastalar (grup II) olarak iki gruba ayrıldı. Hastaların 23'ünde (%38) deri testi pozitif, 37'sinde (%62) deri testi negatif olarak tespit edildi. Genel Çocuk Polikliniğine rutin izlem amacı ile başvuran kronik hastalığı olmayan, tamamen sağlıklı aynı yaş grubundaki 40 çocuk ise kontrol grubu (grup III) olarak alındı.

Grup I'in 12 (%52)'si kız, 11 (%48)'i erkek olup yaş ortalaması  $9,8 \pm 2,5$  yıl, grup II'nin 18 (%49)'i kız, 19 (%51)'u erkek olup yaş ortalaması  $9,2 \pm 2,9$  yıl, grup III'ün ise 20 (%50)'si kız, 20 (%50)'si erkek olup yaş ortalaması  $9,5 \pm 2,5$  yıl olarak bulundu. Grup I, grup II, grup III arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $p > 0,05$ ). Grup I'in vücut ağırlığı ortalaması  $35,0 \pm 10,4$  kg, boy ortalaması  $139,4 \pm 14,4$  cm, VKİ ortalaması  $17,7 \pm 3,4$  kg/m<sup>2</sup> bulundu. Grup II'nin vücut ağırlığı ortalaması  $31,8 \pm 11,8$  kg, boy ortalaması  $131,8 \pm 15,2$  cm, VKİ ortalaması  $17,6 \pm 3,2$  kg/m<sup>2</sup> saptandı. Grup III'ün vücut ağırlığı ortalaması  $32,8 \pm 10,6$  kg, boy ortalaması  $135,8 \pm 15,5$  cm, VKİ ortalaması  $17,4 \pm 3,1$  kg/m<sup>2</sup> tespit edildi. Her üç grup vücut ağırlığı, boy ve VKİ ortalaması açısından değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi ( $p > 0,05$ ). Ayrıca grup I, grup II ve grup III arasında doğum öyküsü (sezeryan veya normal doğum), doğum haftası (prematür veya miad doğum), doğum kilosu, süt çocukluğu döneminde rutin vitamin D (400 IU/gün) kullanımı ve anne sütü alımı açısından değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ( $p > 0,05$ ). Grup I'in ortalama semptom başlama yaşı  $5,3 \pm 2,6$  yıl, grup II'nin  $6,4 \pm 3,9$  yıl olarak saptandı. Hastaların astım ile ilgili şikayetleri başladıktan çalışmaya katıldıkları zamana kadar geçirdikleri akut astım atak sayısı sorgulandığında; grup I'de ortalama  $12,9 \pm 11,8$ , grup II'de  $9,9 \pm 9,1$  tespit edildi. Ataklarda; grup I'deki hastaların %40'ının hastanede yatarak, %60'ının evde, grup II'deki hastaların %32'sinin hastanede yatarak, %68'inin evde tedavi aldıkları öğrenildi. Grupların dermografik özellikleri Tablo 13'te verildi.

**Tablo 13.** Olguların Dermografik Özellikleri

	Hasta n=60	Grup I n=23	Grup II n=37	Grup III n=40	P değeri
Yaş (yıl)	9,5±2,8* (5-16)**	9,8±2,5 (5-14)	9,2±2,9 (5-16)	9,5±2,5 (5-14)	>0,05 hasta <sup>#</sup> -grup III >0,05 grup I-grup II >0,05 grup I-grup III >0,05 grup II-grup III
Cinsiyet (kız/erkek)	30/30	12/11	18/19	20/20	>0,05 hasta-grup III >0,05 grup I-grup II >0,05 grup I-grup III >0,05 grup II-grup III
Vücut ağırlığı (kg)	33,0±11,3 (18-66)	35,0±10,4 (18-66)	31,8±11,8 (18-59)	32,8±10,6 (17-60)	>0,05 hasta-grup III >0,05 grup I-grup II >0,05 grup I-grup III >0,05 grup II-grup III
Boy (cm)	134,7±15,2 (109-168)	139,4±14,4 (113-162)	131,8±15,2 (109-168)	135,8±15,5 (109-168)	>0,05 hasta-grup III >0,05 grup I-grup II >0,05 grup I-grup III >0,05 grup II-grup III
VKI (kg/m <sup>2</sup> )	17,6±3,3 (10,4-27,1)	17,7±3,4 (10,4-27,1)	17,6±3,2 (13,3-26,1)	17,4±3,1 (13,6-24,4)	>0,05 hasta-grup III >0,05 grup I-grup II >0,05 grup I-grup III >0,05 grup II-grup III
Doğum öyküsü (C/S-NSVY)	20/40	11/12	9/28	12/28	>0,05 hasta-grup III >0,05 grup I-grup II >0,05 grup I-grup III >0,05 grup II-grup III
Doğum haftası (prematür/miad)	8/52	4/19	4/33	3/37	>0,05 hasta-grup III >0,05 grup I-grup II >0,05 grup I-grup III >0,05 grup II-grup III
Doğum kilosu (kg)	3,0±0,7	3,06±0,7	3,02±0,7	3,2±0,6	>0,05 hasta-grup III >0,05 grup I-grup II >0,05 grup I-grup III >0,05 grup II-grup III
Vitamin D (400 IU/gün) kullanımı (var/yok)	35/25	14/9	21/16	22/18	>0,05 hasta-grup III >0,05 grup I-grup II >0,05 grup I-grup III >0,05 grup II-grup III
Anne sütü alımı (var/yok)	55/5	20/3	35/2	35/5	>0,05 hasta-grup III >0,05 grup I-grup II >0,05 grup I-grup III >0,05 grup II-grup III
Akut astım atağı sayısı	11,1±10,2 (1-50)	12,9±11,8 (2-50)	9,9±9,1 (1-40)		>0,05 grup I-grup II
Astım semptom başlama yaşı	6,0±3,5 (1-15)	5,3±2,6 (1-11)	6,4±3,9 (1-15)		>0,05 grup I-grup II

\*ortalama ± standart deviasyon, \*\* (minimum-maksimum), <sup>#</sup> hasta: grup I ve grup II'deki hastaların toplamı, C/S: Sezeryan, NSVY: Normal spontan vajinal yol, Grup I: Allerjik astımlı hasta, Grup II: Nonallerjik astımlı hasta, Grup III: Kontrol



Grup I'in ortalama kan AES  $382 \pm 280 \text{ mm}^3$  (%4,9 $\pm$ 3,4), grup II'nin ortalama kan AES  $280 \pm 207 \text{ mm}^3$  (%3,4 $\pm$ 2,2), grup III'ün ortalama kan AES  $200 \pm 135 \text{ mm}^3$  (%2,8 $\pm$ 2,0) olarak ölçüldü. Absolü eozinofil sayısı açısından grup I ve grup II arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yoktu ( $p > 0,05$ ). Buna karşın grup I ile grup III arasında AES açısından istatistiksel olarak fark vardı ve benzer şekilde grup II ile grup III AES açısından karşılaştırıldığında da anlamlı farklılık tespit edildi ( $p < 0,05$ ). Grup I'in serum ortalama Ca düzeyi  $9,2 \pm 0,5 \text{ mg/dL}$ , P düzeyi  $4,7 \pm 0,5 \text{ mg/dL}$ , ALP düzeyi  $226 \pm 68 \text{ IU/L}$ , Mg düzeyi  $2,1 \pm 0,3 \text{ mg/dL}$ , PTH düzeyi  $40,5 \pm 19,0 \text{ pg/mL}$  olarak ölçüldü. Grup II'nin serum ortalama Ca düzeyi  $9,3 \pm 0,6 \text{ mg/dL}$ , P düzeyi  $4,5 \pm 1,0 \text{ mg/dL}$ , ALP düzeyi  $217 \pm 78 \text{ IU/L}$ , Mg düzeyi  $2,1 \pm 0,3 \text{ mg/dL}$ , PTH düzeyi  $49,2 \pm 47,3 \text{ pg/mL}$  olarak saptandı. Ek olarak grup III'ün ise serum ortalama Ca düzeyi  $9,7 \pm 0,4 \text{ mg/dL}$ , P düzeyi  $4,8 \pm 0,5 \text{ mg/dL}$ , ALP düzeyi  $215 \pm 72 \text{ IU/L}$ , Mg düzeyi  $2,1 \pm 0,3 \text{ mg/dL}$ , PTH düzeyi  $43,3 \pm 36,1 \text{ pg/mL}$  tespit edildi. Grup I ve grup II arasında serum Ca düzeyi açısından fark yoktu ( $p > 0,05$ ). Buna karşın, grup I ile grup III ve grup II ile grup III arasında serum Ca düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi ( $p < 0,05$ ), ancak serum Ca değerleri her bireyde yaşına göre normal aralıktaydı. Grup I-grup II, grup I-grup III ve grup II-grup III serum P, ALP, Mg, PTH düzeyleri açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi ( $p > 0,05$ ). Serum ortalama total IgE düzeyleri grup I'de  $507,0 \pm 578,8 \text{ IU/mL}$ , grup II'de  $213,8 \pm 375,4 \text{ IU/mL}$ , grup III'te ise  $108,8 \pm 193,6 \text{ IU/mL}$  olarak ölçüldü. Grup I'de serum ortalama total IgE düzeyi, grup II ve grup III'e göre daha yüksekti. Grup I ile grup II ve grup I ile grup III arasında serum total IgE düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ( $p < 0,05$ ). Buna karşın, grup II ile grup III arasında serum total IgE açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p > 0,05$ ) (Tablo 14).

FeNO düzeyi grup I'de ortalama  $37,1 \pm 19,6 \text{ ppb}$ , grup II'de  $21,3 \pm 17,2 \text{ ppb}$ , grup III'te  $17,0 \pm 5,7 \text{ ppb}$  saptandı. Serum total IgE düzeyleri ile benzer şekilde; grup I'in ortalama FeNO düzeyi, grup II ve grup III'e göre daha yüksekti ve grup I ile grup II ve grup I ile grup III arasında FeNO düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ( $p < 0,05$ ). Buna karşın grup II ile grup III arasında ise FeNO düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p > 0,05$ ). Grupların laboratuvar değerleri Tablo 14'te verildi.

**Tablo 14.** Olguların Laboratuvar Değerleri

	<b>Hasta n=60</b>	<b>Grup I n=23</b>	<b>Grup II n=37</b>	<b>Grup III n=40</b>	<b>P değeri</b>
<b>AES(mm<sup>3</sup>)</b>	319,3±240,7* (20-1250)**	382,0±280,0 (20-1250)	280,0±207,0 (20-820)	200,0±135,3 (10-580)	0,01 hasta <sup>#</sup> -grup III >0,05 grup I-grup II 0,01 grup I-grup III 0,046 grup II-grup III
<b>Eoz(%)</b>	4,0±2,8 (0,2-16,7)	4,9±3,4 (0,2-16,7)	3,4±2,2 (0,2-9,8)	2,8±2,0 (0,1-8,5)	0,02 hasta-grup III >0,05 grup I-grup II 0,005 grup I-grup III 0,02 grup II-grup III
<b>Ca (mg/dL)</b>	9,3±0,6 (8,4-11,0)	9,2±0,5 (8,4-10,4)	9,3±0,6 (8,5-11,0)	9,7±0,4 (8,8-10,6)	0,01 hasta-grup III >0,05 grup I-grup II 0,002 grup I-grup III 0,002 grup II-grup III
<b>P (mg/dL)</b>	4,5±0,8 (2,4-8,5)	4,7±0,5 (3,5-5,7)	4,5±1,0 (2,4-8,5)	4,8±0,5 (3,6-6,2)	0,047 hasta-grup III >0,05 grup I-grup II >0,05 grup I-grup III >0,05 grup II-grup III
<b>ALP (IU/L)</b>	220±74 (66-390)	226±68 (97-390)	217±78 (66-367)	215±72 (98-418)	>0,05 hasta-grup III >0,05 grup I-grup II >0,05 grup I-grup III >0,05 grup II-grup III
<b>PTH (pg/mL)</b>	45,8±39,0 (6,4-306,1)	40,5±19,0 (9,7-80,1)	49,2±47,3 (6,4-306,1)	43,3±36,1 (13,5-212,3)	>0,05 hasta-grup III >0,05 grup I-grup II >0,05 grup I-grup III >0,05 grup II-grup III
<b>IgE (IU/mL)</b>	326,2±481,2 (4,1-2500)	507,0±578,8 (10-2500)	213,8±375,4 (4,1-1810)	108,8±193,6 (1,2-1159)	0,002 hasta-grup III 0,01 grup I-grup II 0,001 grup I-grup III >0,05 grup II-grup III
<b>FeNO (ppb)</b>	27,4±19,6 (7-100)	37,1±19,6 (10-82)	21,3±17,2 (7-100)	17,0±5,7 (7-30)	0,02 hasta-grup III 0,002 grup I-grup II 0,001 grup I-grup III >0,05 grup II-grup III
<b>VitD (ng/mL)</b>	21,9±12,1 (3,3-54,2)	20,5±10,8 (5,6-44,2)	22,8±12,9 (3,3-54,2)	21,9±7,2 (10,1-40,1)	>0,05 hasta-grup III >0,05 grup I-grup II >0,05 grup I-grup III >0,05 grup II-grup III

\*ortalama ± standart deviasyon, \*\* (minimum-maksimum), <sup>#</sup> hasta: grup I ve grup II'deki hastaların toplamı, FeNO: Fraksiyone ekshale nitrik oksit, Grup I: Allerjik astımlı hasta, Grup II: Nonallerjik astımlı hasta, Grup III: Kontrol

Grup I’de SFT’deki FEV1, FVC, FEV1/FVC, PEF, MEF25-75 parametreleri yüzde referans değerlerine göre sırasıyla 88,5±14,6, 80,7±12,3, 105,8±10,1, 80,6±17,3, 91,4±31,5 olarak ölçüldü. Grup II’de ise 83,7±20,8, 79,54±18,3, 104,2±15,8, 74,7±23,6, 81,5±36,4 tespit edildi. Ayrıca grup I ve grup II, FEV1, FVC, FEV1/FVC, PEF, MEF25-75 parametreleri açısından ayrı ayrı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı (p>0,05). Ek olarak grup III’te ise sırasıyla 98,5±7,4, 87,5±7,6, 110,1±8,2, 92,5±12,4, 112,0±18,1 olarak ölçüldü. Grup I ile grup III ve grup II ile grup III, FEV1, FVC, FEV1/FVC, PEF, MEF25-75 parametreleri açısından ayrı ayrı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi (p<0,05) (Tablo 15).

**Tablo 15.** Olguların Solunum Fonksiyon Testi Parametreleri

	<b>Hasta n=60</b>	<b>Grup I n=23</b>	<b>Grup II n=37</b>	<b>Grup III n=40</b>	<b>P değeri</b>
<b>FEV1(%)</b>	85,5±18,7* (31-125)**	88,5±14,6 (52-125)	83,7±20,8 (31-117)	98,5±7,4 (86-118)	0,001 hasta <sup>#</sup> -grup III >0,05 grup I-grup II 0,001 grup I-grup III 0,001 grup II-grup III
<b>FVC(%)</b>	79,9±16,2 (34-114)	80,7±12,3 (53-109)	79,5±18,3 (34-114)	87,5±7,6 (72-104)	0,008 hasta-grup III >0,05 grup I-grup II 0,009 grup I-grup III 0,01 grup II-grup III
<b>FEV1/FVC(%)</b>	104,8±13,9 (56-118)	105,8±10,1 (83-118)	104,2±15,8 (56-118)	110,1±8,2 (91-117)	>0,05 hasta-grup III >0,05 grup I-grup II 0,04 grup I-grup III 0,04 grup II-grup III
<b>PEF(%)</b>	76,9±21,4 (35-124)	80,6±17,3 (56-124)	74,7±23,6 (35-122)	92,5±12,4 (64-123)	0,001 hasta-grup III >0,05 grup I-grup II 0,002 grup I-grup III 0,001 grup II-grup III
<b>MEF25-75(%)</b>	85,3±34,7 (23-192)	91,4±31,5 (43-169)	81,5±36,4 (23-192)	112,0±18,1 (83-156)	0,001 hasta-grup III >0,05 grup I-grup II 0,002 grup I-grup III 0,001 grup II-grup III

\*ortalama ± standart deviasyon, \*\* (minimum-maksimum), <sup>#</sup> hasta: grup I ve grup II’deki hastaların toplamı, Grup I: Allerjik astımlı hasta, Grup II: Nonallerjik astımlı hasta, Grup III: Kontrol

Serum ortalama vitamin D düzeyi; grup I'de  $20,5 \pm 10,8$  ng/mL, grup II'de  $22,8 \pm 12,9$  ng/mL, grup III'te ise  $21,9 \pm 7,2$  ng/mL olarak ölçüldü. Grup I ile grup II ve grup I ile grup III vitamin D düzeyi açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi ( $p > 0,05$ ). Benzer şekilde grup II ile grup III'te serum vitamin D düzeyi açısından karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel açıdan fark bulunmadı ( $p > 0,05$ ) (Tablo 14). Grup I'de serum vitamin D düzeyi ile IgE, AES, BMI, FENO arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki yoktu ( $p > 0,05$ ). Ek olarak grup I'de solunum fonksiyon testindeki FEV1, FVC, FEV1/FVC, PEF, MEF25-75 parametreleri ile vitamin D arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmedi ( $p > 0,05$ ). Benzer şekilde grup II'de serum vitamin D düzeyi ile IgE, AES, BMI, FENO arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki yoktu ( $p > 0,05$ ). Ayrıca grup II'de solunum fonksiyon testindeki FEV1, FVC, FEV1/FVC, PEF, MEF25-75 parametreleri ile vitamin D arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmedi ( $p > 0,05$ ). Grup III'deki vakalarda da grup I ve grup II'de olduğu gibi serum vitamin D düzeyi ile IgE, AES, BMI, FENO arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki yoktu ( $p > 0,05$ ). Ayrıca grup III'te solunum fonksiyon testindeki FEV1, FVC, FEV1/FVC, PEF, MEF25-75 parametreleri ile vitamin D arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit edilmedi ( $p > 0,05$ ).

Grupların serum vitamin D düzeylerindeki eksiklik, yetmezlik ve yeterlilik durumuna göre değerlendirilmesinde; grup I'de 12 (%52) kişide vitamin D düzeyinde eksiklik, 6 (%26) kişide vitamin D düzeyinde yetmezlik, 5 (%22) kişide ise vitamin D düzeyi yeterli olarak bulundu. Ayrıca grup II'de 16 (%43) kişide vitamin D düzeyinde eksiklik, 12 (%32) kişide vitamin D düzeyinde yetmezlik, 9 (%25) kişide ise vitamin D düzeyi yeterli saptandı. Grup III'te ise 17 (%43) kişide vitamin D düzeyinde eksiklik, 18 (%45) kişide vitamin D düzeyinde yetmezlik, 5 (%12) kişide ise vitamin D düzeyi yeterli tespit edildi. Hasta grubunun (grup I ve grup II'deki hastaların toplamı) %76'sında, grup I'in %78'inde, grup II'nin %75'inde ve grup III'ün %87'sinde serum vitamin D düzeyi  $< 30$  ng/mL tespit edildi. Grup I ile grup III ve grup II ile grup III arasında serum vitamin D'nin eksiklik, yetmezlik ve yeterlilik düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ( $p > 0,05$ ). Benzer şekilde grup I ve grup II arasında da serum vitamin D'nin eksiklik, yetmezlik ve yeterlilik düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı

bir ilişki tespit edilmedi ( $p>0,05$ ) (Tablo 16). Ayrıca bütün vakalar serum vitamin D düzeyindeki eksiklik, yetmezlik ve yeterlilik durumuna göre üç farklı gruba ayrılarak IgE, AES, BMI, FENO ve solunum fonksiyon testindeki FEV1, FVC, FEV1/FVC, PEF, MEF25-75 parametreleri ile karşılaştırıldı. Vitamin D düzeyinde eksiklik olan grup ile vitamin D düzeyi yeterli olan grup arasında IgE, AES, BMI, FENO ve solunum fonksiyon testindeki FEV1, FVC, FEV1/FVC, PEF, MEF25-75 parametreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0,05$ ). Benzer şekilde vitamin D düzeyinde yetmezlik olan grup ile vitamin D düzeyi yeterli olan grup arasında da IgE, AES, BMI, FENO ve solunum fonksiyon testindeki FEV1, FVC, FEV1/FVC, PEF, MEF25-75 parametreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ( $p>0,05$ ). Ek olarak vitamin D düzeyi eksik olan grup ile vitamin D düzeyinde yetmezlik olan grup arasında IgE, AES, BMI, FENO ve solunum fonksiyon testindeki FEV1, FVC, FEV1/FVC, PEF, MEF25-75 parametreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0,05$ ).

**Tablo 16.** Olguların Vitamin D ve FeNO Düzeyleri

	<b>Hasta (n=60)</b>	<b>Grup I (n=23)</b>	<b>Grup II (n=37)</b>	<b>Grup III (n=40)</b>	<b>P değeri</b>
<b>VitD eksiklik (<math>\leq 20</math> ng/mL)</b>	28(%46)	12(%52)	16(%43)	17(%42)	$>0,05$ hasta-grup III
<b>VitD yetmezlik (21-29 ng/mL)</b>	18(%30)	6(%26)	12(%32)	18(%45)	$>0,05$ grup I-grup II, $>0,05$ grup I-grup III,
<b>VitD yeterli (<math>\geq 30</math> ng/mL)</b>	14(%24)	5(%22)	9(%25)	5(%13)	$>0,05$ grup II- grup III
<b>FeNO düşük (<math>\leq 20</math> ppb)</b>	31(%51)	6(%26)	25(%68)	31(%78)	<b>0,003</b> hasta-grup III
<b>FeNO orta (21-34 ppb)</b>	13(%22)	5(%22)	8(%22)	9(%22)	<b>0,001</b> grup I-grup II <b>0,0001</b> grup I-grup III
<b>FeNO yüksek (<math>\geq 35</math> ppb)</b>	16(%27)	12(%52)	4(%10)	0(%0)	$>0,05$ grup II-grup III

Grup I: Allerjik astımlı hasta, Grup II: Nonallerjik astımlı hasta, Grup III: Kontrol, Hasta: Grup I ve grup II'deki hastaların toplamı

Vakaların ölçülen FeNO değerleri  $\leq 20$  ppb, 21-34 ppb ve  $\geq 35$  ppb şeklinde üç grupta sınıflandırıldı. Grup I'deki hastaların %52'sinde FeNO değeri  $\geq 35$  ppb iken, grup III'te hiçbir olguda FeNO değeri  $\geq 35$  ppb saptanmadı (Tablo 16). Ek

olarak grup I ile grup II ve grup I ile grup III FeNO değeri açısından karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi ( $p<0,05$ ). Buna karşın grup II ile grup III arasında ise FeNO düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ( $p>0,05$ ).

Grupların mevsimsel dağılımına bakıldığında; grup I'de 10 (%43) kişi kış, 13 (%57) kişi yaz mevsiminde, grup II'de 17 (%46) kişi kış, 20 (%54) kişi yaz mevsiminde çalışmaya alınmıştır. Grup III'te ise 16 (%40) kişi kış, 24 (%60) kişi yaz mevsiminde çalışmaya alınmıştır. Grup I, grup II ve grup III arasında mevsimsel dağılım açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu ( $p>0,05$ ). Kış mevsiminde çalışmaya alınan kişilerin ortalama vitamin D düzeyi  $17,1\pm 7,5$  (3-31) ng/mL, yaz mevsiminde çalışmaya alınan kişilerin vitamin D düzeyi  $28,2\pm 10,3$  (4-54) ng/mL tespit edildi ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ( $p=0,0001$ ).

Hastaların 12'sinin (%20) ailesinde (anne-baba-kardeşler) astım hastalığı öyküsü varken 48'inin (%80) ailesinde saptanmadı; hastaların 9'unda (%15) atopik dermatit öyküsü varken, 51'inde (%85) yoktu. Hastaların 17'si (%28) akut astım atağında, 43'ü (%72) ise stabil dönemdeki astım hastalarıydı. Akut astım atağındaki hastalarının ortalama vitamin D düzeyi  $19,8\pm 9,0$  (3-42) ng/mL, stabil olanların  $22,8\pm 13,0$  (4-54) ng/mL tespit edildi ve aralarında istatistiksel olarak fark yoktu ( $p>0,05$ ). Atak sayısı ile vitamin D düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon tespit edilmedi ( $r=-0,07$ ,  $p>0,05$ ).

### **3.1. Polimorfizm Analizleri**

Apal polimorfizmi için CC: Homozigot normal, CA: Heterozigot, AA: Homozigot mutant genotip olarak, Taq1 ve Fok1 polimorfizminde ise TT: Homozigot normal, TC: Heterozigot, CC: Homozigot mutant genotip olarak belirlendi. Hasta grubu (grup I ve grup III'teki hastaların toplamı) ve grup III arasında Apal ve Fok1 polimorfizmi genotipleri ve allel sıklıkları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ( $p>0,05$ ). Buna karşın Taq1 genotipi açısından grup III ile karşılaştırıldığında hasta grubunda heterozigot genotipin arttığı belirlendi ( $p<0,05$ ). Hasta grubu ile grup III arasında Taq1 allel sıklıkları açısından ise anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ( $p>0,05$ ) (Tablo 17).

**Tablo 17.** Apa1, Taq1 ve Fok1 polimorfizmleri genotip ve allel sıklıklarının hasta ve kontrol grubundaki dağılımları

	Hasta n=60	Grup III n=40	P değeri	$\chi^2$	OR (95%CI)
<b><u>Apa1</u></b>					
<b><u>Genotipler</u></b>					
CC(%)	12 (%20)	6 (%15)	0,261	2,6	0,88 (0,29-2,69)
CA(%)	37 (%62)	21 (%53)			
AA(%)	11 (%18)	13 (%32)			
<b><u>Alleller</u></b>					
C(%)	61 (%51)	33 (%41)	0,183	1,7	0,67 (0,38-1,2)
A(%)	59 (%49)	47 (%59)			
<b><u>Taq1</u></b>					
<b><u>Genotipler</u></b>					
TT(%)	20 (%33)	14 (%35)	<b>0,049</b>	6,04	1,53 (0,62-3,78)
TC(%)	35 (%59)	16 (%40)			
CC(%)	5 (%8)	10 (%25)			
<b><u>Alleller</u></b>					
T(%)	75 (%63)	44 (%55)	0,29	1,1	0,73 (0,41-1,3)
C(%)	45 (%37)	36 (%45)			
<b><u>Fok1</u></b>					
<b><u>Genotipler</u></b>					
TT(%)	5 (%8)	2 (%5)	0,79	0,46	0,9 (0,38-2,14)
TC(%)	19 (%32)	14 (%35)			
CC(%)	36 (%60)	24 (%60)			
<b><u>Alleller</u></b>					
T(%)	29 (%24)	18 (%23)	0,78	0,07	0,91 (0,46-1,7)
C(%)	91 (%76)	62 (%77)			

C: Sitozin, A: Adenin, T: Timin, OR: Odds Ratio, CI: Confidence Interval (Güven aralığı), Hasta: Grup I ve grup II'deki hastaların toplamı, Grup III: Kontrol

Grup I ile grup III ve grup II ile grup III; Apa1, Taq1 ve Fok1 polimorfizmleri allel ve genotip sıklıkları açısından karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yoktu ( $p>0,05$ ). Benzer şekilde grup I ile grup II Apa1, Taq1 ve Fok1 polimorfizmleri allel ve genotip sıklıkları açısından karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark tespit edilmedi ( $p>0,05$ ) (Tablo 18).

**Tablo 18.** Alerjik ve nonallerjik hastalar arasında VDR gen polimorfizmi dağılımları

	<b>Grup I n=23</b>	<b>Grup II n=37</b>	<b>Grup III n=40</b>	<b>P*değeri</b>
<b><u>Apal</u></b>				
<b><u>Genotipler</u></b>				
<b>CC(%)</b>	5 (%8)	7 (%12)	6 (%15)	
<b>CA(%)</b>	14 (%23)	23 (%38)	21 (%53)	>0,05
<b>AA(%)</b>	4 (%7)	7 (%12)	13 (%32)	
<b><u>Alleller</u></b>				
<b>C(%)</b>	24 (%52)	37(%50)	33 (%41)	>0,05
<b>A(%)</b>	22 (%48)	37(%50)	47 (%59)	
<b><u>Taq1</u></b>				
<b><u>Genotipler</u></b>				
<b>TT(%)</b>	8 (%13)	12 (%20)	14 (%35)	
<b>TC(%)</b>	13 (%22)	22 (%37)	16 (%40)	>0,05
<b>CC(%)</b>	2 (%3)	3 (%5)	10 (%25)	
<b><u>Alleller</u></b>				
<b>T(%)</b>	29 (%63)	46 (%49)	44 (%55)	>0,05
<b>C(%)</b>	17 (%37)	38 (%51)	36 (%45)	
<b><u>Fok1</u></b>				
<b><u>Genotipler</u></b>				
<b>TT(%)</b>	1 (%2)	4 (%7)	2 (%5)	
<b>TC(%)</b>	8 (%13)	11 (%18)	14 (%35)	>0,05
<b>CC(%)</b>	14 (%23)	22 (%37)	24 (%60)	
<b><u>Alleller</u></b>				
<b>T(%)</b>	10 (%22)	19 (%26)	18 (%23)	>0,05
<b>C(%)</b>	36 (%78)	55 (%74)	62 (%77)	

C: Sitozin, A: Adenin, T: Timin, P\*:grup I-grup II, grup I-grup III, grup II-grup III arası analizler, Grup I: Alerjik astımlı hasta, Grup II: Nonallerjik astımlı hasta, Grup III: Kontrol

Grup I'de vitamin D düzeyi ile VDR gen polimorfizmleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunmadı ( $p>0,05$ ). Benzer şekilde grup II'de ve grup III'te de vitamin D düzeyi ile VDR gen polimorfizmleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yoktu ( $p>0,05$ ). Tüm olgularda, vitamin D eksiklik, yetmezlik ve yeterlilik düzeyleri ile VDR gen polimorfizmleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0,05$ ) (Tablo 19).



**Tablo 19.** Vitamin D düzeyi ve VDR gen polimorfizmi dağılımları

	<b>VitD eksiklik (≤ 20 ng/mL) n=45</b>	<b>VitD yetmezlik (21-29 ng/mL) n=36</b>	<b>VitD yeterli (≥ 30 ng/mL) n=19</b>	<b>P*değeri</b>
<b><u>Apa1</u></b>				
<b><u>Genotipler</u></b>				
CC(%)	4 (%4)	9 (%9)	5 (%5)	
CA(%)	29 (%29)	17 (%17)	12 (%12)	>0,05
AA(%)	12 (%12)	10 (%10)	2 (%2)	
<b><u>Alleller</u></b>				
C(%)	37 (%41)	35 (%49)	22 (%58)	>0,05
A(%)	53 (%59)	37 (%51)	16 (%42)	
<b><u>Taq1</u></b>				
<b><u>Genotipler</u></b>				
TT(%)	16 (%16)	13 (%13)	5 (%5)	
TC(%)	23 (%23)	17 (%17)	11 (%11)	>0,05
CC(%)	6 (%6)	6 (%6)	3 (%3)	
<b><u>Alleller</u></b>				
T(%)	55 (%61)	43 (%60)	21 (%55)	>0,05
C(%)	35 (%39)	29 (%40)	17 (%45)	
<b><u>Fok1</u></b>				
<b><u>Genotipler</u></b>				
TT(%)	2 (%2)	2 (%2)	3 (%3)	
TC(%)	14 (%14)	16 (%16)	3 (%3)	>0,05
CC(%)	29 (%29)	18 (%18)	13 (%13)	
<b><u>Alleller</u></b>				
T(%)	18 (%20)	20 (%28)	9 (%24)	>0,05
C(%)	72 (%80)	52 (%72)	29 (%76)	

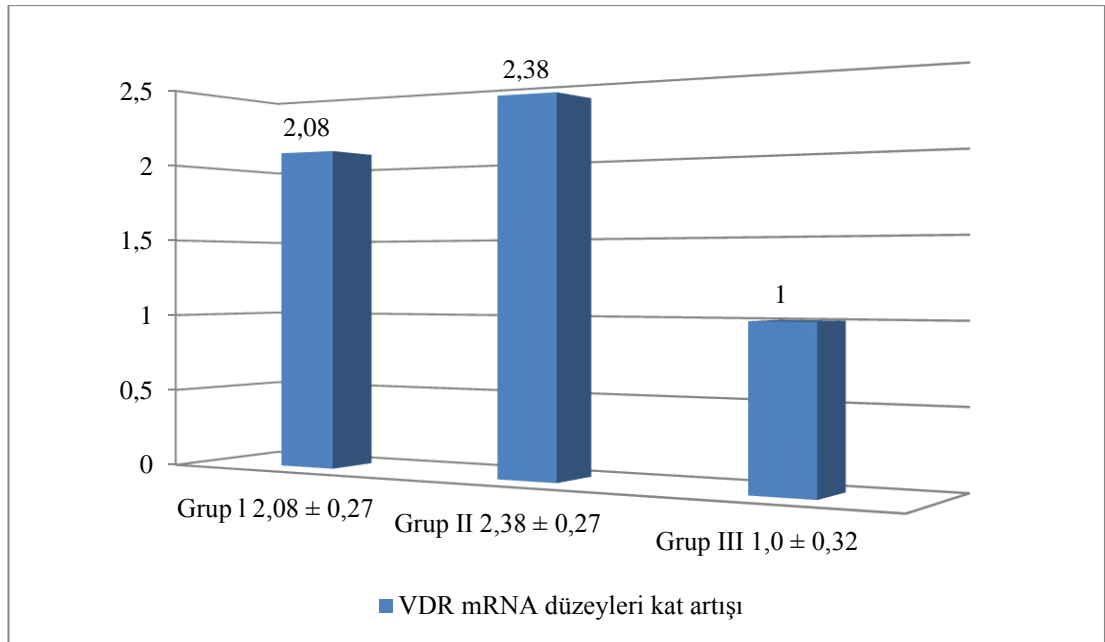
C: Sitozin, A: Adenin, T: Timin, p\*:grup I-grup II, grup I-grup III, grup II-grup III arası analizler

Grup I'de Apa1, Taq1 ve Fok1 polimorfizmleri ile FeNO, BMI, AES, Eoz%, IgE, SFT parametreleri olan FEV1, FVC, FEV1/FVC, PEF, MEF 25-75 değerleri, Ca, P, ALP, Mg, PTH düzeyleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yoktu ( $p>0,05$ ). Grup I'deki hastaların atak sayıları ile Apa1, Taq1 ve Fok1 polimorfizmleri arasında ilişki de tespit edilmedi. Akut ataktaki astım hastaları ile stabil dönemdeki astım hastalarında bakıldığında da Apa1, Taq1 ve Fok1 polimorfizmleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunamadı ( $p>0,05$ ). Benzer şekilde Grup II'de Apa1, Taq1 ve Fok1 polimorfizmleri ile FeNO, BMI, AES, Eoz%, IgE, SFT parametreleri olan FEV1, FVC, FEV1/FVC, PEF, MEF 25-75 değerleri, Ca, P, ALP, Mg, PTH düzeyleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yoktu ( $p>0,05$ ). Grup II'deki hastaların atak sayıları ile Apa1, Taq1 ve Fok1 polimorfizmleri arasında ilişki de tespit edilmedi. Akut ataktaki astım hastaları ile stabil dönemdeki astım

hastalarında bakıldığında da Apa1, Taq1 ve Fok1 polimorfizmleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunamadı ( $p>0,05$ ). Ek olarak Grup III'te de Apa1, Taq1 ve Fok1 polimorfizmleri ile FeNO, BMI, AES, Eoz%, IgE, SFT parametreleri olan FEV1, FVC, FEV1/FVC, PEF, MEF 25-75 değerleri, Ca, P, ALP, Mg, PTH düzeyleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark yoktu ( $p>0,05$ ).

### 3.2. Ekspresyon analizleri

Çalışmada 60 hasta ve 40 kontrol olmak üzere 100 kişinin kan örneklerinden izolasyonu yapılan RNA'ların miktarı Qubit cihazı (Invitrogen, Carlsbad, CA) kullanılarak ölçüldü. Ölçüm değeri  $2 \mu\text{g/ml}$ 'nin altında olan örnekler çalışmaya dahil edilmedi. Toplam 55 örneğin (15 allerjik hasta=grup I, 23 nonallerjik hasta=grup II ve 17 kontrol=grup III) RNA miktarları çalışma için uygun olarak tespit edildi. 55 VDR geninin ekspresyonları  $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$  değerleri kullanılarak değerlendirildi.



**Şekil 5.** Vitamin D reseptör mRNA düzeyleri kat artışı

Grup III (n=17) ile karşılaştırıldığında grup I'de (n=15) vitamin D reseptör mRNA düzeylerinde 2,08 katlık, grup II'de (n=23) ise 2,38 katlık bir artış tespit edilmiş olup bu oranın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlenmiştir ( $p^{1-3}=0,003$ ,  $p^{2-3}=0,009$ ) (Şekil 5). Grup I ile grup II arasında VDR mRNA düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

Grup I'de VDR mRNA düzeyleri ile yaş, cinsiyet, kilo, boy, BMI arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki yoktu ( $p>0,05$ ). Ayrıca VDR mRNA düzeyleri ile

IgE, AES, Eoz%, vitamin D, FeNO, Ca, P, ALP, Mg ve PTH düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edilmedi ( $p>0,05$ ). Ek olarak SFT'deki FEV1, FVC, FEV1/FVC, PEF, MEF25-75 parametreleri ile VDR mRNA düzeyleri arasında da anlamlı bir ilişki yoktu ( $p>0,05$ ). Vitamin D reseptör mRNA düzeyleri ile astım başlama yaşı, atopik dermatit öyküsü, ortalama atak sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki yoktu ( $p>0,05$ ). Benzer şekilde Grup II'de VDR mRNA düzeyleri ile yaş, cinsiyet, kilo, boy, BMI arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki yoktu ( $p>0,05$ ). Ayrıca VDR mRNA düzeyleri ile IgE, AES, Eoz%, vitamin D, FeNO, Ca, P, ALP, Mg ve PTH düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edilmedi ( $p>0,05$ ). Solunum fonksiyon testindeki FEV1, FVC, FEV1/FVC, PEF, MEF25-75 parametreleri ile VDR mRNA düzeyleri arasında da anlamlı bir ilişki yoktu ( $p>0,05$ ). Vitamin D reseptör mRNA düzeyleri ile astım başlama yaşı, atopik dermatit öyküsü, ortalama atak sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki yoktu ( $p>0,05$ ). Ek olarak Grup III'te de VDR mRNA düzeyleri ile yaş, cinsiyet, kilo, boy, BMI arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki yoktu ( $p>0,05$ ). Ayrıca VDR mRNA düzeyleri ile IgE, AES, Eoz%, vitamin D, FeNO, Ca, P, ALP, Mg ve PTH düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edilmedi ( $p>0,05$ ). Ek olarak SFT'deki FEV1, FVC, FEV1/FVC, PEF, MEF25-75 parametreleri ile VDR mRNA düzeyleri arasında da anlamlı bir ilişki yoktu ( $p>0,05$ ).

Tüm olgularda VDR mRNA düzeyleri ile Apa1 ve Fok1 polimorfizmleri genotipleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki yokken ( $p>0,05$ ), Taq1 heterozigot genotipinde homozigot genotiplerle karşılaştırıldığında gen ekspresyonunun azaldığı belirlenmiştir ( $p=0,02$ ). Vitamin D reseptör mRNA ile polimorfizmler arasındaki ilişki grup I, grup II ve grup III arasında ayrı ayrı değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi ( $p>0,05$ ).

#### 4. TARTIŞMA

Astım çocukluk çağı kronik hastalıklarının en sık görülenidir ve büyük ölçüde genetik faktörler ile ilişkilidir (101). Son yıllarda vitamin D ve onun nükleer reseptörü VDR, astım patogenezine katkıda bulunan yeni bir faktör olarak ortaya çıkmıştır (102). Yapılan çalışmalar astımın vitamin D ile ilişkili moleküler genetik bir temele dayanabileceğini göstermektedir. Genom analizleri, vitamin D reseptör geninin olduğu 12. kromozomun q13-23 bölgesini de içeren birçok bölge tanımlamıştır. Aynı şekilde 12. kromozom, astım ve total IgE fenotipleri ile de bağlantılıdır. Bu durum VDR geninin astım ile ilişkili bir gen olabileceğini düşündürmektedir (103-105). Farklı popülasyon ve etnik gruplarda, VDR geni ile astım arasındaki ilişki ile ilgili bir grup çalışma yapılmıştır. Kuzey Amerika'da yapılan iki farklı çalışmada VDR gen polimorfizmi ile astım arasında ilişki olduğu rapor edilmiştir (106, 107). Almanya'da yapılan bir çalışmada ise bu ilişki gösterilememiştir (108). Sonuçlar arasındaki tutarsızlıklar belki de popülasyon farklılıklarından kaynaklanmaktadır. Bu bulgular 1,25(OH)<sub>2</sub>D ve VDR'nin astım riski ile net olmayan bir ilişkisinin olabileceğine işaret eder. Yine de birkaç genetik varyasyon (SNP gibi) VDR geninde tanımlanmıştır. Bunlar VDR geninin fonksiyonunu, gen ekspresyonu ya da vitamin D aktivitesinde değişikliğe neden olarak etkileyebilirler. Ayrıca genetik faktörler geri bildirim regülasyonunu etkileyerek vitamin D eksikliği durumuna katkıda bulunabilir. Aslında VDR, 1,25(OH)<sub>2</sub>D, retinoid X reseptör (RXR) bir heterodimer oluşturur ve vitamin D metabolit seviyelerini düzenleyici rol oynayan genin promotor bölgesindeki VDRE lokasyonuna bağlanır. Vitamin D reseptör, RXR veya vitamin D metabolizmasındaki herhangi bir enzim etkilendiğinde, vitamin D'nin kendi konsantrasyonu ile kendi kendine düzenlenen endokrin geri bildirim döngüsü; düzensiz olabilir (109).

Vitamin D eksikliği ve astım, allerji arasındaki ilişkiyle ilgili çalışmalar son zamanlarda anlamlı bir şekilde artmıştır. Düşük vitamin D ile daha şiddetli hastalık, artmış ilaç kullanımı, azalmış akciğer fonksiyonu ile olan astımın ilişkili olduğunu belirten çok sayıda epidemiyolojik çalışma mevcuttur (110).

Machura ve ark. (111) tarafından yapılan bir çalışmada çocuklarda hafif ve şiddetli astımın klinik ilerleyişine balık yağı takviyesinin etkileri incelenmiştir. Hafif astımlı 31 çocuk ve şiddetli astımlı 16 çocuk hastaya 12 hafta boyunca günlük 15 cc

balık yağı, kontrol grubundaki 23 çocuğa ise ayçiçek yağı verilmiş ve astımlı hastaların bazal tedavisine de devam edilmiştir. Klinik semptom, PEF, FEV1, MEF 25-75, kan total kolesterol, trigliserit ve 25(OH)D düzeyi takip edilmiş. Sekiz hafta sonra hafif astımlılarda klinik olarak sadece hafif düzelme gözlemlenmiş ve kan lipit değişimi normal aralıktayken, 25(OH)D düzeyinde anlamlı bir yükselme tespit edilmiştir. Black ve Scragg (69) 1988-1994 yılları arasında 20 yaş üzerindeki 14,091 kişide spirometre ile FEV1 ve FVC değerlerini ve serum 25(OH)D düzeylerini ölçerek bir çalışma yapmışlar. Vitamin D düzeyi yüksek olan kişiler, vitamin D düzeyi düşük olan kişiler ile karşılaştırıldığında, vitamin D düzeyi yüksek olan kişilerin FEV1 ve FVC değerleri daha yüksek bulunmuş ve istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmiş. Ancak bu çalışmada serum 25(OH)D düzeyi ile solunum fonksiyonları arasında pozitif bir ilişki olduğu tespit edilmesine rağmen bunun sebebini tam olarak açıklayamamıştır. Düşük vitamin D düzeylerinin mi akciğer fonksiyonlarını zayıflattığı yoksa kişilerin akciğer fonksiyonları düşük olduğu için fiziksel aktivitenin ve evden dışarı çıkışlarının azalmasına bağlı olarak, güneşe maruziyetin azalması sonucu mu vitamin D'nin düşük tespit edildiği tam olarak açıklanamamıştır.

Brehm ve ark. (72) Costa Rica'lı 6-14 yaş arasındaki 616 astımlı çocuğun serum vitamin D düzeyini değerlendirdikleri çalışmada hastaların %3,4'ünde vitamin D düzeyinde eksiklik, %28'sinde yetersizlik tespit etmişlerdir. Vitamin D seviyesi ile total IgE ve eozinofil sayısı arasında istatistiksel olarak anlamlı ve negatif korelasyon olduğunu saptamışlardır. Ayrıca astım şiddeti ve allerji belirteçlerinin (total IgE, eozinofil sayısı ve deri testi) artışı ile düşük vitamin D düzeyi arasında anlamlı ilişki olduğunu bulmuşlardır. Şiddetli astımı olan hastaların daha fazla kapalı ortamda vakit geçirmesi nedeniyle vitamin D'lerinin düşük olabileceğini veya yüksek D vitamini olanların beslenmelerinde iyi olduğu ve astım şiddetini modifiye eden E vitamini gibi diğer besinleride yüksek oranda almaları ile ilişkili olabileceğini düşünmüşlerdir. Brehm ve ark. (80) önceki çalışmanın kesitsel ve retrospektif olması ve tek bir coğrafik bölgeye ait bilgiler içermesi gibi kısıtlanmaları olması nedeniyle yeni bir çalışma planlamışlardır. 2010'da yaptığı CAMP çalışmasında, 1024 orta ağır astımlı Kuzey Amerikalı çocuk değerlendirilmiş ve bu hastaların %35'inde vitamin D düzeyi yetersiz saptanmıştır. Vitamin D düzeyi düşük olanların

dört yıllık izlem periyodunda acile başvuru sıklığının daha fazla olduğu belirlenmiştir. Ayrıca vitamin D yetersizliği olan grupta ortalama FEV1 değerinin vitamin D düzeyi normal olanlara göre daha düşük olduğu bulunmuştur. Ancak Costa Rica çalışmasından farklı olarak allerji belirteçleri (total IgE, eozinofil sayısı ve cilt testi) ile vitamin D düzeyi arasında ilişki gösterilememiştir. Bu sonuçları aşağıdaki hipotezler ile açıklamışlardır. Costa Rica'daki çalışma, genetik epidemiyolojik bir çalışma olarak düzenlenmiş ve çalışmaya katılan çocuklar 6 ila 8 kuşak boyunca Costa Rica'da yaşayan ailelerden seçilmiştir ve tek merkezlidir. CAMP çalışmasına ise beyaz, siyah ve ispanyollardan oluşan, farklı enlem ve yükseklikteki sekiz merkezden seçilen vakalar dahil edilmiştir. Her iki çalışmadaki deri testi pozitif hastaların oranlarının aynı olması, ortalama D vitamini düzeylerinin benzer olması nedeniyle, D vitamininin sadece belirli çevreden köken alan atopik duyarlanma ile ilişkili olabileceğini düşünmüşlerdir.

Puerto Rican'lı çocuklarda 2012'de yapılan bir çalışmada, 6-14 yaş arasında olan 287 astımlı ve 273 sağlıklı toplam 560 çocukta, vitamin D yetmezliği ile astım alevlenme şiddeti, akciğer fonksiyonu veya atopi arasında ilişki olup olmadığını araştırmışlar. Astımlılarda %44, kontrol grubunda %47 oranında vitamin D yetmezliği tespit edilmiş. Hasta ve kontrol grupları arasında vitamin D düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Ek olarak hasta ve kontrol gruplarında, vitamin D yetmezliği ile total IgE düzeyi, FEV1/FVC oranı, en az bir pozitif allerjen spesifik IgE düzeyi arasında ilişki tespit edilmemiştir. Ayrıca vitamin D yetmezliği, atopik olmayanlarda, atopik olanlara göre daha fazla bulunmuş. Sadece astım hastalarında yapılan değerlendirmede ise vitamin D yetmezliği ile FEV1/FVC arasında ilişki olduğu fakat FEV1 ile arasında ilişki olmadığı saptanmıştır. Hastalık şiddeti veya astım kontrol belirteçleri, ırk ve atopiden bağımsız olarak vitamin D yetmezliği ile astım alevlenme şiddeti arasında bağlantı bulunmuştur. D vitamininin ağır astım ataklarının patogenezini, allerjik immün yanıtın düzenlenmesi dışındaki mekanizmalarla etkilediğini düşünmüşlerdir (112). Baydar (113)'ın erişkinlerde yaptığı bir çalışmada; 112 astımlı hastayı ve 94 sağlıklı erişkini kontrol grubu olarak çalışmaya dahil etmişlerdir. Hasta ve kontrol grubuna solunum fonksiyon testi, deri testi yapılmış, kan total IgE, eozinofil sayısı değerlendirilmiş. Vitamin D eksikliği (<20 ng/mL) astımlı hastalarda %40,2, kontrol

grubunda %30,9; vitamin D yetmezliği (<30 ng/mL) hastalarda %68,8, kontrol grubunda %60,6 olarak tespit edilmiş ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Son 1 yıldaki atak sayısı, total IgE düzeyi ve eozinofil sayısı ile vitamin D düzeyleri arasında korelasyon saptanmamıştır. Hasta ve kontrol grupları kendi içerisinde vitamin D eksikliğine göre değerlendirildiğinde deri testi pozitifliği ile vitamin D düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Hem astımlı hasta hemde kontrol grubunda vitamin D düzeyi ile FEV1 ve FVC değerleri arasında pozitif korelasyon bulunmuş. Ayrıca vitamin D eksikliğinin astımın şiddeti ve kontrolünü etkilemediği belirlenmiştir. Bizim çalışmamızda da bu iki çalışmada olduğu gibi hasta ve kontrol grupları arasında vitamin D düzeyleri açısından fark bulunmamıştır.

Vitamin D durumu ile ilgili birçok kesitsel çalışma astımlı çocuklarda, farklı popülasyonlarda yapılmıştır. Vitamin D eksikliği, özellikle şehirde yaşayan veya obez olan Afrikan Amerikanlar arasında çok yaygındır. Freishtat ve ark. (114) şehirde yaşayan astımlı 85 adölesan Afrikan Amerikan ile kontrol grubundaki 21 sağlıklı vakayı karşılaştırmışlar ve astımlıların %54'ünde vitamin D eksikliği, %86'sında vitamin D yetersizliği, kontrol grubunda ise %5 vitamin D eksikliği ve %19 vitamin D yetmezliği saptamışlardır. Astımlılarda total IgE, deri testi pozitifliği, eozinofil sayısı, FEV1 ve FeNO değerleri kaydedilmiş, ancak vitamin D ile ilişkileri değerlendirilmemiştir. Persistan astımlı Afrikan Amerikan gençlerde vitamin D eksikliği veya yetmezliği olduğu, bu popülasyonda rutin vitamin D ölçümünün yapılması gerektiğini rapor etmişlerdir. Chinellato ve ark. (115) İtalya'lı 5-11 yaş aralığındaki 75 astımlı çocukta yaptığı kesitsel bir çalışmada; serum 25(OH)D, solunum fonksiyon testi, serum total IgE, FeNO, deri testi ve astım kontrol testini değerlendirmişler. Hastaların %90,6'sında vitamin D düzeyi <30 ng/mL tespit edilmiş, güneşe maruziyet ne olursa olsun akdeniz ülkelerinde yaşayan astımlı çocuklarda hipovitaminoz D'nin sık olduğu ve düşük vitamin D seviyelerinin bu çocuklarda astım kontrolünü engellediği belirlenmiştir. Vitamin D ile FEV1 ve FEV1/FVC arasında anlamlı ilişki yokken vitamin D ile FVC arasında orta düzeyde bir ilişki olduğu saptanmıştır. Ayrıca vitamin D düzeyi ile total IgE, eozinofil sayısı, total allerji skoru arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Bu sonucun hastaların vitamin D konsantrasyonlarının dar bir aralıkta (12,5-35,7 ng/mL)

dağılıyor olmasıyla ilişkili olabileceğini düşünmüşler. Vitamin D ile FeNO arasında da anlamlı bir ilişki bulunmamış ve FeNO allerjik eozinofilik inflamasyonun bir göstergesi olduğu için vitamin D ile FeNO arasında anlamlı bir ilişki bulunmamasını beklenen bir sonuç olarak değerlendirmişlerdir. İran’da yapılan bir başka çalışmada, 6-18 yaş arasındaki 50 astımlı ve 50 sağlıklı çocukta vitamin D düzeyi ile solunum fonksiyon testi, eozinofil sayısı arasındaki ilişki araştırılmış. Azalmış vitamin D düzeyi ile artmış astım sıklığı arasında ilişki bulunmuştur. Astımlılarda 25(OH)D seviyeleri ile hem FEV1 hemde FEV1/FVC parametreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon gösterilmiştir. Vitamin D düzeyi ile eozinofil sayısı, hastalık süresi, hastanede yatış sayısı arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır (116). Orta Doğu Bölgesinde yapılan astım ve vitamin D ilişkisini inceleyen ilk epidemiyolojik çalışmada, Katar’lı 483 astımlı hasta ve 483 sağlıklı kontrol grubu alınmış. Astımlı çocuklarda %68,1, kontrol grubunda ise %36,1 oranında vitamin D düzeyi 20 ng/ml’in altında tespit edilmiş ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Bu çalışmada astımlı hastaların kontrol grubuna göre daha az güneş ışığına maruz kaldığı ve daha az fiziksel aktivite yaptığı anketlerle belirlenmiştir. Ek olarak Katar’lı çocuklarda astımın majör prediktörünün vitamin D eksikliği olduğu belirtilmiştir (117). Bizim çalışmamızda; Costa Rica’daki (72) çalışmadan farklı olarak, CAMP (80) çalışması, Baydar’ın (113) çalışması, İtalya’da (115) ve İran’da (116) yapılan çalışmalarla benzer olarak vitamin D düzeyleri ile atopi, eozinofil sayısı ve serum total IgE arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Total IgE ve periferik eozinofil sayısı alerjinin ve astımın laboratuvar göstergesi olarak kullanılmaktadır. Ancak kanda ölçülen bu parametrelerin atopik durumu tam olarak yansıtmadığı belirtilmektedir. Özellikle kanda ölçülen total IgE ve periferik eozinofil sayısının, bu parametrelerin dokulardaki düzeyi hakkında sınırlı bir bilgi verdiği rapor edilmiştir. Çalışmamızda vitamin D ile total IgE ve periferik eozinofil düzeyleri arasında ilişki saptamamızın bir nedeninin de bu tetkiklerin ölçümlerinin periferik kandan ölçmemiz olduğunu düşünüyoruz.

Türkiye’de Uysalol ve ark.(118)’nın 2-14 yaş arasında 85 astımlı ve 85 sağlıklı çocukla yaptıkları bir çalışmada; vitamin D düzeyi, astımlılarda ortalama  $16,6 \pm 8,5$  ng/mL, kontrol grubunda  $28,2 \pm 19,5$  ng/mL bulunmuş. Serum vitamin D seviyesi, astımlı hastalarda %90,6 kontrol grubunda %67,7 oranında  $<30$  ng/mL



tespit edilmiştir. Astım ve kontrol grupları arasında vitamin D düzeyleri açısından anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ( $p<0,001$ ). Astımlı hastaların daha az güneş ışığına maruz kaldığı, daha az vitamin D'den zengin gıdalarla beslendiği, daha fazla solunum sistemi enfeksiyonu geçirdiği ve hastaneye yatma oranlarının daha fazla olduğu belirlenmiş. Düşük vitamin D düzeyi ile astım şiddetinin artışı ve kontrolünün azaldığı saptanmıştır.

Bizim çalışmamızda astımlı hastaların %76'sında, sağlıklı kontrol grubunun ise %87'sinde vitamin D yetmezliği ( $<30$  ng/mL) tespit edildi ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Bu oran yapılan bazı çalışmalara (72, 80, 112, 113) göre daha yüksek iken, bazı çalışmalara (115, 118) göre daha düşük tespit edildi. Serum 25(OH)D düzeyi obezite, ilaç kullanımı, kronik hastalıklar, çevre şartları, coğrafi konumdan etkilenebilir (66). Vitamin D eksikliği astım için bir risk faktörü olarak kabul edilir. Eksikliğin kötü akciğer fonksiyonu ve astım şiddeti ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Astımlı hastalarda görülen vitamin D eksikliği; kötü beslenme, az güneş görme, enlem, mevsim, evde oturma alışkanlığı gibi birden çok faktöre bağlı olabilir. (109). Çalışmamızdaki sağlıklı kontrol grubunda vitamin D yetmezliğinin bu kadar yüksek oranda görülmesi de dikkat çekicidir. NHANES verilerine göre Amerika Birleşik Devletlerinde adolesan ve erişkinlerin ancak dörtte birinde vitamin D düzeyi yeterlidir ve çocukların %61'inde vitamin D yetersizliği mevcuttur (52). Norman ve ark. (53)'nın yayınladığı vitamin D çalışma raporuna göre Kuzey Amerika ve Batı Avrupa'nın yaklaşık %50'sinde ve geri kalan dünyanın üçte ikisinde vitamin D eksikliği vardır ve vitamin D eksikliği prevelansı tüm dünyada giderek artmaktadır. Bazı ülkelerde besinlerin vitamin D ile güçlendirilmesi ve vitamin D içeren multivitaminler önerilmesine rağmen vitamin D eksikliği görülmektedir ve bu eksikliğin nedeni olarak yaşam tarzında olan değişiklikler suçlanmaktadır (68). Elazığ ili günlük güneşlenme süresi Türkiye ortalamasına göre daha yüksektir (119). Bu sebeple çalışmamızda tespit ettiğimiz bu yetmezlik düzeyinin coğrafi konumla ilgili olmadığını ancak vakaların yaşam tarzıyla ilişkili olduğunu düşünüyoruz. Bunlar arasında; güneşin zararlı etkilerinden sakınma amaçlı ev içinde daha çok vakit geçirilmesi ve ev dışında yüksek faktörlü güneş kremi kullanımı, balık ve istiridye gibi deniz ürünlerinin bölgemizde çok az tüketilmesi, geleneksel kapalı giyinme, kültürel alışkanlıklara bağlı olarak yaz aylarında tatil ve

güneş banyosu alışkanlığının olmaması gibi nedenler sayılabilir. Araştırmamızda bazı sınırlamalar vardır. Çalışmamızda beslenme alışkanlığı, günlük güneşlenme süresi, giyim tarzı gibi faktörler ile vitamin D düzeyi arasındaki ilişki değerlendirilmemiştir. Ayrıca bölgemizde 5-18 yaş aralığına ait vitamin D yetmezliği veya eksikliğini araştıran bir çalışma yapılmadığı için bizim çalışmamızdaki veriler genel popülasyondaki vitamin D yetersizliği veya eksikliğini yansıtmayabilir. Araştırmamızda belirlenen vitamin D yetersizliği oranının ne denli toplumumuzu yansıttığı ancak bölgemizde yapılacak geniş kapsamlı epidemiyolojik bir çalışma ile gösterilebilir. Önemli bir halk sağlığı sorunu olan bu durumun önlenmesi için kalsiyumdan ve vitamin D'den zengin beslenmenin yanında, gebelik boyunca 2000 IU/gün ve doğum sonrası sadece 1 yaşa kadar değil, okul öncesi ve ergenlik döneminde de 400 IU/gün vitamin D profilaksisi önerilmektedir (120).

Vitamin D düzeyleri mevsimsel değişimlerden etkilenmektedir. Freishtat ve ark. (113) mevsimler arasında serum vitamin D düzeylerinde anlamlı fark olduğu ve kış aylarında yaz aylarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde vitamin D düzeylerinin düştüğünü göstermişlerdir. Bu çalışmayla benzer olarak bizim çalışmamızda da kış döneminde yaza göre vitamin D düzeyi düşük bulunmuştur. Ayrıca çalışmamızda mevsim etkisini ortadan kaldırılmak için hasta ve kontrol grupları mevsimlere göre eşit oranda alınmıştır.

Solunum havasında nitrik oksit (FeNO) referans değerleri için birçok çalışmada farklı değerler tespit edilmiştir. FeNO; yaş, cinsiyet, atopi ve sigara kullanımından etkilenmektedir. Allerjik astımda artmış enflamatuvar sitokinlerle ilişkili olarak FeNO artar. FeNO; atopi, total ve spesifik IgE ile korelasyon göstermektedir, eozinofilik inflamasyonun bir göstergesidir (48). Bu bilgilerle benzer olarak bizim çalışmamızda FeNO düzeyi allerjik hastalarda kontrol grubuna ve nonallerjik hastalara göre belirgin yüksek tespit edildi. Ayrıca vitamin D düzeyi ile FeNO arasında da istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı.

Vitamin D reseptör geninde genetik çalışmalar ile çeşitli polimorfizmler çalışılmıştır. Apa1 (rs7975232), Taq1 (rs731236) ve Fok1 (rs2228570) polimorfizmlerine çalışmamızda değerlendirildi. Fok1'in F alleli ekson 2'de alternatif bir ATG başlama kodunu oluşturur ve 3 aminoasit daha uzun bir VDR proteini ile sonuçlanır. Apa1 ve Taq1 polimorfizmi VDR geninin 3' ucunun yanında

lokalizedir, Apa1 SNP intron 8’de, Taq1 sessiz SNP’si ise exon 9’da lokalizedir (5, 96-99). Farklı popülasyon ve etnik gruplarda yapılan çalışmaların bir kısmı VDR SNP’leri ile astım arasında ilişki olduğunu gösterirken (106, 107, 121, 122), bazı çalışmalarda ise bu bulgu saptanmamıştır (108, 123). Vitamin D reseptör SNP’leri ile astım arasındaki ilişkiyle ilgili literatür taraması Tablo 20’de verilmiştir.

**Tablo 20.** Astım ve VDR gen polimorfizmi ile ilgili literatür taraması

VDR SNP’leri	Karşılaştırılan Popülasyonlar								
	CAMP (106)	NHS (106)	Kanada (107)	Tunus (122)	Almanya (108)	Çin(1) (121)	Çin(2) (124)	Çin(3) (125)	Afrikan Amerikan (126)
Apa1	P	P	NP	NP	-	P	-	-	-
Taq1	NP	P	P	P	NP	NP	-	-	-
Fok1	NP	NP	NP	P	NP	NP	NP	NP	NP

\*P: polimorfizm mevcut, NP: polimorfizm mevcut değil

Raby ve ark. (106)’nın CAMP aracılığıyla yaptıkları bir çalışmada 582 ailede 12. kromozomun 7 pozisyonunda 28 lokus genotiplendirilmiş ve VDR Apa1 polimorfizmi ile astım arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Raby ve ark.’nın CAMP çalışmasının devamı olarak ikinci bir kohort çalışma, The Nurses’ Healty Study (NHS) yapılmış. Bu çalışmaya 517 bayan astım hastası ve 519 sağlıklı kişi kontrol grubu olarak katılmış. Altı VDR SNP’sinin (Fok1, Apa1, Taq1, rs3782905, rs1540339, rs2239185) dördünün (Apa1, Taq1, rs3782905, rs2239185) astım ile istatistiksel olarak anlamlı ilişkisi olduğu tespit edilmiştir. Poon ve ark.(107)’nin Kanada’nın kuzey doğusunda Fransız bir topluluk üzerinde yaptığı aile temelli çalışmasında yaşları 3 ile 80 arasında değişen 570 astımlı ve 569 sağlıklı 1,139 bireyde 12 tane SNP çalışmışlar. Bunlardan 6 tanesi (rs3782905C, rs1540339A, rs2239185C, rs2239185G, Bsm1G ve Taq1T) ile astım arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulmuşlardır.

Maalmi ve ark. (122)’nin Tunus’lu, 155 astımlı ve 225 sağlıklı çocukta yaptıkları çalışmada, VDR Fok1, Bsm1, Apa1 ve Taq1 polimorfizmlerine araştırmışlar. Astımlı hastalarda Fok1, Bsm1 ve Taq1 genotip dağılımında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark varken, Apa1 genotipinde bu ilişki saptanmamıştır. Allel sıklıklarında ise Fok1 ve Bsm1’de anlamlı fark varken, Taq1 ve Apa1’de bulamamışlardır. Wjst (108)’in yaptığı bir çalışmada 224 Alman ailenin 951 bireyinde astım ile 13 VDR SNP’si arasındaki ilişkiye bakılmış ve istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Metakoline karşı bronş hiperreaktivitesi ve

spesifik IgE ile VDR SNP'leri arasında anlamlı ilişki tespit edilmiştir. Ahlem ve ark. (121) Çin'de 567 astım ve 523 kontrol grubundan oluşan 1090 kişide Fok1, Ddel, Bsm1, Apa1, Taq1 polimorfizmlerinin varlığını araştırmış ve Apa1 polimorfizminin astım ile ilişkili olduğu saptanmıştır. Beş lokus haplotip analizleri yapılmış ve TCGAT haplotipi ile astım arasında yüksek anlamlı bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Fang ve ark. (124) Çin'de yaptığı bir başka çalışmada 101 astım ve 206 kontrol grubunda Bsm1 ve Fok1 polimorfizmlerine bakılmış ve astım ile bu iki VDR SNP'si arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır. Fei Li ve ark. (125) Çin'de yaptıkları diğer bir çalışmada ise 467 astımlı hasta ve 288 kontrol grubunda VDR exon 2'de rs2228570 (Fok1), CYP2R1 (vitamin D 25 hidroksilaz) exon 1'de rs12794714, GC (vitamin D binding protein) gen'de rs4588 ve rs7041 polimorfizmlerini değerlendirmişler. Astım ile VDR ve CYP2R1'deki polimorfizmler arasında ilişki yokken, GC gendeki iki polimorfizmi ile ilişki bulmuşlardır. Pillai ve ark. (126) 3 adet vitamin D metabolizması ile ilgili gende [VDR (vitamin D reseptör), CYP24A1 (vitamin D 24 hidroksilaz), CYP2R1 (vitamin D 25 hidroksilaz)] 12 SNP çalışmışlar ve sadece CYP2R1 SNP rs10766197 homozigot minör genotipi ile astım arasında ilişki tespit etmişlerdir.

Bizim çalışmamızda ise; hasta ve kontrol grubu arasında Apa1 ve Fok1 polimorfizmi genotipleri ve allel sıklıkları açısından anlamlı bir farklılık tespit edilmedi. Taq1 polimorfizminde ise genotip açısından sağlıklı kontrole karşılaştırıldığında hasta grubunda heterozigot genotipin arttığı fakat allel sıklıkları açısından anlamlı bir farklılık olmadığını saptadık. Sonuçlarımız Poon ve ark. (107)'nin sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Poon ve ark.'larıda astım ile Taq1 polimorfizmi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulmuşlar fakat Apa 1 ve Fok 1 polimorfizmi açısından ilişki tespit etmemişlerdir. Bizim çalışmamızla benzer şekilde, NHS çalışmasında (106) ve Maalmi ve ark. (122) yaptığı çalışmada da Taq1 polimorfizmi ile astım arasında ilişki bulunmuştur. Yapılan bazı çalışmalarda (106, 121) bizim çalışmamızdan farklı olarak, Apa 1 polimorfizmi ile astım arasında ilişki tespit edilmiş fakat Poon ve ark. (107) ve Maalmi ve ark. (122)'nin çalışmasında ise bizim çalışmamızla benzer şekilde Apa1 polimorfizmi ile astım arasında ilişki bulunmamıştır. Ek olarak astım ile Fok1 polimorfizmi arasındaki ilişkiyi değerlendiren araştırmalarda; Maalmi ve ark. (122) anlamlı bir ilişki olduğunu

saptamışlar, ancak bazı çalışmalarda (106, 108, 121, 124-126) bizim çalışmamıza benzer şekilde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki tespit etmemişlerdir.

Çalışmamızda Apa1, Taq1 ve Fok1 polimorfizmleri ile FeNO, IgE düzeyleri, eozinofil sayısı, deri testi pozitifliği, solunum fonksiyon testi parametreleri, akut astım atakları arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmedi. Poon ve ark. (107) bizim çalışmamızın sonuçları ile zıt veriler elde etmişlerdir. Çalıştıkları 12 SNP'nin 3' bölgesi varyantlarının da olduğu 4 tanesi (rs2239185C, Bsm1G, Apa1C ve Taq1T) ile atopi arasında ilişkili bulmuşlardır. Ayrıca yüksek IgE ile rs2239185C, Apa1C ve Taq1T allelleri arasında da ilişki olduğu bulunmuş. Pillai ve ark. (126)'da benzer şekilde VDR SNP rs2228570 (Fok1) polimorfizminin; bir veya daha fazla aeroallerjen pozitif deri testi, artmış Ig E seviyeleri, astım şiddet göstergeleri olan yüksek gece astım morbidite skoru ve düşük bazal spirometrik değerlerle ilişkisi olduğu gösterilmiştir. Maalmi ve ark. (122) ise bizim çalışmamıza benzer şekilde polimorfizmler ile atopi arasında bağlantı saptamamışlar, ancak astımın şiddetiyle polimorfizmler arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit etmişlerdir.

Farklı popülasyon çalışmaları arasındaki sonuçların değişken olmasını birkaç faktör etkileyebilir. Birincisi; etnik karakteristiklere ek olarak coğrafik farklılıklar ve yaşam alışkanlıkları, bu farklı sonuçların önemli sebepleri olabilir. İkincisi; eğer mevcut ise, belki de VDR genindeki genetik etki zayıftır ve böylece çalışmalardaki istatistiksel güç, özellikle yetersiz sayıda hasta kaydedilmişse güvenilir sonuçlara varmak için çok düşük olabilir. Popülasyondaki tabakalanmadan dolayı, genlerin gerçek etkisini, vaka-kontrol örneklerinde tanımlamak sıklıkla zordur. Bu durum genlerin altında yatan karmaşık özellikleri için gerçek genetik etkiyi tersine çevirebilir, değiştirebilir, maskeleyebilir. Üçüncüsü, çevresel faktörler ve farklı genler arasındaki etkileşim, VDR aktivitesinde rol oynayabilir. Gen-gen veya gen-çevre etkileşimi, popülasyonlar arasında büyük ihtimalle farklıdır (127, 128). Vitamin D reseptörü birçok endokrin yolu etkileyen esas transkripsiyon faktörüdür (129). Vitamin D reseptör varyantlarının kemik biyolojisindeki rolü benzerdir, VDR polimorfizmi ve astım arasındaki ilişki, çok sayıda potansiyel gen-gen ve gen-çevre etkileşimiyle büyük olasılıkla karışmıştır (100). Bu temel sorunlar gözönüne alındığında genetik ilişkili çalışmaların, nüfus tabakalaşmasını önlemek için çok

sayıda örnek ile yapılması gerekmektedir ve benzer çalışmaların meta analizleri yorumlanmalıdır (130).

Genetik çalışmalar, astım ve ilişkili fenotiplerinin patogenezinde VDR polimorfizminin suçlanabileceğini göstermiştir. Solunum yolu enflamasyonunun gelişimiyle ilişkili olan proinflamatuvar ve antiinflamatuvar sitokinleri kodlayan genler, vitamin D ve VDR bağımlı sinyal yollarının aktivitesini azaltmayı hedefler. VDR polimorfizmi bu genlerin transkripsiyon hızını ve daha sonrada astımı etkileyecektir. Vitamin D yolağının komponentlerini kodlayan genlerin diğer polimorfizmlerinin astım riski ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (125, 126, 128).

Çalışmamızda tüm olgularda vitamin D düzeyi ile VDR gen polimorfizmleri arasında Apa1, Taq1 ve Fok1 polimorfizmleri genotipleri arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı. Maalmi ve ark. (122) bizim çalışmamızla benzer olarak vitamin D düzeyleri ile polimorfizm genotipleri arasında ilişki saptamamışlardır. Hibler ve ark. (131)'da 25(OH)D veya 1,25(OH)<sub>2</sub>D serum seviyeleri ile VDR genetik varyasyonları arasında ilişki olmadığını bulmuşlardır. Smolders ve ark. (132) yaptıkları bir çalışmada Fok1 ve serum 25(OH)D seviyeleri arasında ilişki olduğunu bulmuşlardır. Ek olarak bu çalışmada yaz ve kış ayları düşük 25(OH)D düzeyi ile Fok1 F allel arasında ilişki tespit edilmiştir.

Vitamin D'ye ait yapılan gen ekspresyon çalışmalarının hemen hepsi, aktif D vitamininin doğrudan veya dolaylı olarak total genomun %0,8-5'ini regüle ettiğini vurgulamaktadır. Bu durum aktif D vitamininin hücrel büyümenin düzenlenmesi, DNA onarımı, diferansiasyon, apoptozis, membran transportu, hücrel metabolizma, adezyon ve oksidatif stres gibi birçok olayda görev almasını açıklamaktadır (133). Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada inflamatuvar durumlarda VDR ekspresyonunun azaldığı tespit edilmiş. Vitamin D eksikliği ile azalmış VDR ekspresyonu ilişkilendirilmiştir. Ayrıca vitamin D takviyesinin, allerjik hava yolu enflamasyonunu azalttığı ve VDR ekspresyonunu arttırdığı bulunmuştur. Bu çalışmada vitamin D'nin çeşitli dokularda immün modülatör ve antiinflamatuvar fonksiyonu olduğu sonucuna varılmıştır (134). Wada ve ark. (135)'lerinin yaptıkları bir çalışmada ülseratif kolitli ve kolorektal kanserli hastalarda VDR ekspresyonu değerlendirilmiş ve hastaların kolon mukozasında sağlıklı kontrol grubuna göre VDR ekspresyonunun azaldığı tespit edilmiş. Fakat VDR ekspresyonu ile enflamasyon

arasında direkt ilişki bulunmamıştır. Bir başka çalışmada VDR mRNA düzeyi ile VDR Fok1 ve Taq1 genotipleri arasında ilişki bulunmuş. Fok1 FF ve Taq1 TT genotipleri Fok1 ff ve Taq1 tt genotipleri ile karşılaştırıldığında FF ve TT’de VDR mRNA düzeylerinde anlamlı bir yükseklik tespit edilmiş. VDR mRNA ile vitamin D düzeyleri arasında ilişki bulunmamıştır (136). İn vitro olarak Çin’de yapılan bir çalışmada 25(OH)D’nin VDR ekspresyonu üzerindeki etkisi incelenmiş ve bronşiyal epitel hücrelerinde 25(OH)D’nin etkisinin VDR ekspresyonundan bağımsız olduğu bulunmuştur (137). Bizim çalışmamızda; kontrol grubuyla karşılaştırıldığında astımlı hasta grubunda vitamin D reseptör mRNA düzeylerinde artış tespit edilmiştir. VDR mRNA düzeyleri ile vitamin D düzeyleri arasında ilişki bulunmamıştır. VDR mRNA düzeyleri ile Apa1 ve Fok1 polimorfizm genotipleri arasında ilişki yokken, Taq1 heterozigot genotipinde homozigot genotiplerle karşılaştırıldığında gen ekspresyonunun azaldığı belirlenmiştir. Literatüre bakıldığında VDR ekspresyonu ile astım arasındaki ilişkiyi inceleyen çalışmalar yeterli düzeyde değildir. Bu sebeple VDR mRNA düzeylerinin artışının astımı hangi yönde etkilediğini yorumlamak çok mümkün değildir.

Sonuç olarak biz astımlı hastalarda vitamin D düzeyinde sağlıklılara göre anlamlı bir farklılık bulamadık fakat VDR gen polimorfizmlerinden Taq1 genotipinde anlamlı bir fark vardı. Astımlı hastalarda VDR mRNA düzeyi ise sağlıklılara göre artmıştı. Daha geniş hasta grupları ile yapılacak gelecek çalışmalar, astım ve atopiye, bu ve diğer genlerin katkısını ve astımlı hastalarda önleyici ve/veya tedavi edici müdahaleleri anlamamızı sağlayacaktır.

## 5. KAYNAKLAR

1. Global Strategy for Asthma Management and Prevention, 2012. <http://www.ginasthma.com/Guidelineitem>
2. Türk Toraks Derneği Astım Tanı ve Tedavi Rehberi. Türk Toraks Dergisi, 2010; 11: 6-75.
3. Devereux G, Macdonald H, Hawrylowicz C. Vitamin D and Asthma, Time for Intervention? Am J Respir Crit Care Med 2009; 179: 739-742.
4. Huang H, Porpodis K. Vitamin D in asthma and future perspectives. Drug Design, Development and Therapy 2013; 7; 1003-1013.
5. Uitterlinden AG, Fang Y, Van Meurs JB, Pols HA, Van Leeuwen JP. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. Gene 2004; 338: 143-156.
6. Asher MI, Stewart AW, Wong G, Strachan DP, Garcia-Marcos L. Changes over time in the relationship between symptoms of asthma, rhinoconjunctivitis and eczema: a global perspective from the international study of asthma and allergies in childhood (ISAAC). Allergol Immunopathol (Madr) 2012; 40: 267-274.
7. Guner SN, Gokturk B, Kilic M, Ozkiraz S. The prevalences of allergic diseases in rural and urban areas are similar. Allergol Immunopathol (Madr) 2011; 39: 140-144.
8. Busse WW, Lemanske RF. Asthma. N Engl J Med 2001; 344: 350-362.
9. Demir E, Midyat L. Astım Patogenezi. Turkiye Klinikleri J Pediatr Sci 2009; 5: 6-16.
10. Wiesch DG, Meyers DA, Bleecker ER. Genetics of asthma. J Allergy Clin Immunol 1999; 104: 895-901.
11. Ober C, Hoffjan S. Asthma genetics 2006: the long and winding road to gene discovery. Genes Immun 2006; 7: 95-100.
12. Hoffjan S, Ober C. Present status on the genetic studies of asthma. Curr Opin Immunol 2002; 14: 709-717.



13. Koppelman GH, Reijmerink NE, Stine OC, Howard TD. Association of a promoter polymorphism of the CD14 gene and atopy. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 965-9.
14. Blumenthal M, Bagley MD, Awdeh Z, Johnson B. HLA-DR2 and HLA-B8 haplotypes distinguish subjects with asthma from those with rhinitis only in ragweed pollen allergy. *J Immunol* 1992; 148: 411-6.
15. Blumenthal MN. The role of genetics in the development of asthma and atopy. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2005; 5: 141-145.
16. Koppelman GH, Stine OC, Xu J, Howard TD. Genome-wide search for atopy susceptibility genes in Dutch families with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: 498-506.
17. Van Eerdewegh P, Little RD, Dupuis J, Del Mastro RG. Association of the ADAM33 gene with asthma and bronchial hyperresponsiveness. *Nature* 2002; 418: 426-30.
18. Huang JL. Asthma severity and genetics in Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect* 2005; 38: 158-63.
19. Schedel M, Depner M, Schoen C. The role of polymorphisms in ADAM33 a disintegrin and metalloprotease 33, in childhood asthma and lung function in two German populations. *Respiratory Research* 2006; 7: 91.
20. Zhang J, Pare PD, Sandfor AJ. Recent advances in asthma genetics. *Respir Research* 2008; 9: 4.
21. Karakoç GB, Kılıç M. Astım Genetiği. *Güncel Çocuk Sağlığı* 2010; 1: 31-37.
22. Story RE. Asthma and obesity in children. *Current Opinion in Pediatrics* 2007; 19: 680-684.
23. Bateman ED, Boushey HA, Bousquet J, Busse WW, Clark TJ, Pauwels RA. Can guideline-defined asthma control be achieved? The Gaining Optimal Asthma Control study. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170: 836-844.

24. Dezateux C, Stocks J, Dundas I, Fletcher ME. Impaired airway function and wheezing in infancy: the influence of maternal smoking and a genetic predisposition to asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 403-410.
25. Cohen RT, Raby BA, Van Steen K, Fuhlbrigge AL, Celedon JC, Rosner BA, et al. Childhood asthma management program research group. In utero smoke exposure and impaired response to inhaled corticosteroids in children with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 126: 491-497.
26. Gauderman WJ, Avol E, Gilliland F, Vora H, Thomas D, Berhane K. The effect of air pollution on lung development from 10 to 18 years of age. *N Engl J Med* 2004; 351: 1057-1067.
27. Friedman NJ, Zeiger RS. The role of breast-feeding in the development of allergies and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 1238-1248.
28. Devereux G, Seaton A. Diet as a risk factor for atopy and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 1109-1117.
29. Güler N. Obezite ve astım. *Güncel Pediatri Dergisi* 2007; 5: 73-74.
30. Wjst M. The vitamin D slant on allergy. *Pediatr Allergy Immunol* 2006; 17: 477-483.
31. Stock P, Macaubas C, Dekruyff RH, Umetsu DT. Immunology of the asthmatic response. Leung DYM, Sampson HA, Raif G, Szefer SJ (eds). *Pediatric Allergy*. 2nd edition. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier 2010: 336–347.
32. Hammad H, Lambrecht BN The role of dendritic and epithelial cells as master regulators of allergic airway inflammation. *Lancet* 2010; 376: 835–843
33. Holgate ST. Pathogenesis of asthma. *Clin Exp Allergy* 2008; 38: 872–897.
34. Barnes PJ, Baraniuk JN, Belvisi MG. Neuropeptides in the respiratory tract. Part II. *Am Rev Respir Dis* 1991; 144: 1391-1399.
35. Gemicioğlu B. Bronş astımı. Erk M (ed). *Göğüs hastalıkları*. 1st.ed, İstanbul: İ.Ü. Yayınları 2001; 4297: 621-658.
36. Barnes PJ, Belvisi MG. Nitric oxide and lung disease. *Thorax* 1993; 48: 1034-1043.

37. Levy ML, Fletcher M, Price DB. International Primary Care Respiratory Group (IPCRG) Guidelines: diagnosis of respiratory diseases in primary care. *Prim Care Respir J* 2006; 15: 20-34.
38. Martinez FD. Development of wheezing disorders and asthma in preschool children. *Pediatrics* 2002; 109: 362-367.
39. Expert Panel Report 3(EPR-3). Guidelines for the diagnosis and management of asthma-Full Report 2007. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120: 94-138.
40. Castro-Rodríguez JA, Holberg CJ, Wright AL, Martinez FD. A clinical index to define risk of asthma in young children with recurrent wheezing. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1403-1406.
41. Castro-Rodríguez JA. The Asthma Predictive Index: early diagnosis of asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2011; 11: 157-161.
42. Uysal P, Karaman Ö. Okul öncesi hışıltılı çocuk tanısına ve korunmasına güncel yaklaşım. *Güncel Pediatri* 2012; 10: 59-64.
43. Cockcroft DW. Bronchoprovocation methods: direct challenges. *Clin Rev Allergy Immunol* 2003; 24: 19-26.
44. Tanaç R. Astımda Tanı ve Ayırıcı Tanı. *Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci* 2009; 5: 61-66.
45. Bousquet J, Heinzerling L, Bachert C. Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens. *Allergy* 2012; 67: 18-24.
46. Smith PH, Ownby DR. Clinical Significance of Immunoglobulin E. *Middleton's Allergy Principles and Practice*. Adkinson NF, Yunginger JW, Buse WW, Bochner BS, Holgate ST, Slomons FER (eds). 7th eds. St. Luis: Mosby, 2008: 845-854.
47. Hamilton RG, Adkinson NF. In vitro assays for the diagnosis of IgE mediated disorders. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114: 213-225.
48. Sandrini A, Taylor DR, Thomas PS, Yates DH. Fractional exhaled nitric oxide in asthma: an update. *Respirology* 2010; 15: 57-70.

49. Kliegman RM, Stanton B, Geme J, Schor N, Behrman RE. Childhood asthma. Liu AH, Covar RA, Spahn JD, Leung DYM (eds). Nelson Textbook of Pediatrics. 19th edition, Philadelphia: Elsevier Saunders, 2011: 780-801.
50. Dağlı E. Astım Tedavisi. *Turkiye Klinikleri J Pediatr Sci* 2009; 5: 67-72.
51. Özçelik D, Koçer H, Kasım İ, Şencan İ, Kahveci R, Özkara A. D vitamini. *Turkish Medical Journal* 2012; 6: 61-67.
52. Searing DA, Leung DYM. Vitamin D in atopic dermatitis, asthma and allergic diseases. *Immunol Allergy Clin N Am* 2010; 30: 397-409.
53. Norman AW, Bouillon R, Whiting SJ, Veith R, Kips P. 13Th Workshop consensus for vitamin D nutritional guidelines. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010; 103: 204-205.
54. Lips P. Vitamin D physiology. *Prog Biophys Mol Biol* 2006; 92: 4-8.
55. Holick MF. Vitamin D status: Measurement, interpretation and clinical application. *Ann Epidemiol* 2009; 19: 73-78.
56. İyidir ÖT, Altınova AE. Vitamin D ve Diabetes Mellitus. *Turk Jem* 2012; 16: 89-94.
57. Tezcan Fİ. D vitamini ve İmmün Sistem. *Turkiye Klinikleri J Pediatr Sci* 2012; 8: 66-68.
58. Mahon BD, Wittke A, Weaver V, Cantorna MT. The targets of vitamin D depend on the differentiation and activation status of CD4 positive T cells. *J Cell Biochem* 2003; 89: 922-933.
59. Asilsoy S. Vitamin D ve allerjik hastalıklar. *Asthma ve Allergy Imm* 2011; 9: 1-7.
60. Dimeloe S, Nanzer A, Ryanna K, Hawrylowicz C. Regulatory T cells, inflammation and the allergic response- The role of glucocorticoids and Vitamin D. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010; 120: 86-95.
61. Tsoukas CD, Provvedini DM, Manolagas SC. 1-25- dihydroxyvitamin D3: a novel immunoregulatory hormone. *Science* 1984; 221: 1438-40.

62. Froicu M, Weaver V, Wynn TA, Welsh JE, Cantorna MT. A crucial role for the vitamin D receptor in experimental inflammatory bowel diseases. *Mol Endocrinol* 2003; 17: 2386-2392.
63. Boonstra A, Barrat FJ, Crain C, Heath VL, Savelkoul HF, O'Garra A. 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitaminD<sub>3</sub> has a direct effect on naive CD4(+) T cells to enhance the development of Th2 cells. *J Immunol* 2001; 167: 4974-80.
64. Pichler J, Gerstmayr M, Szepfalusi Z, Urbanek R, Peterlik M, Willheim M. 1 $\alpha$ ,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> inhibits not only Th1 but also Th2 differentiation in human cord blood T cells. *Pediatr Res* 2002; 52: 12-18.
65. Matheu V, Back O, Mondoc E, Issazadeh-Navikas S. Dual effects of vitamin D-induced alteration of TH1/TH2 cytokine expression: enhancing IgE production and decreasing airway eosinophilia in murine allergic airway disease. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112: 585-592.
66. Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357: 266-281.
67. Kim JH, Ellwood PH, Asher MI. Diet and asthma: looking back, moving forward. *Respir Res* 2009; 10: 49.
68. Litonjua AA. Childhood asthma may be a consequence of vitamin D deficiency. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2009; 9: 202-207.
69. Black PN, Scragg R. Relationship between serum 25-hydroxyvitamin D and pulmonary function in the third national health and nutrition examination survey. *Chest* 2005; 128: 3792-3798.
70. Devereux G, Litonjua AA, Turner SW, Craig LCA, McNeill G, Martindale S, et al. Maternal vitamin D intake during pregnancy and early childhood wheeze. *Am J Clin Nutr* 2007; 85: 853-859.
71. Camargo CA, Rifas-Shiman SL, Litonjua AA, Rich-Edwards JW, Weiss ST, Gold DR, et al. Maternal intake of vitamin D during pregnancy and reports of recurrent wheezing in children at 3 y of age. *Am J Clin Nutr* 2007; 85: 788-795.

72. Brehm J, Celedon JC, Soto-Quiros ME, Avila L, Hunninghake GM, Forno E, et al. Serum vitamin D levels and markers of severity of child hood asthma in Costa Rica. *Am J Respir Crit Care Med* 2009; 179: 765-771.
73. Erkkola M, Kaila M, Nwaru B. Maternal vitamin D intake during pregnancy is inversely associated with asthma and allergic rhinitis in 5-year-old children. *Clin Exp Allergy* 2009; 39: 875–882.
74. Wjst M. Introduction of oral vitamin D supplementation and the rise of the allergy pandemic. *Allergy, Asthma & Clin Immunol* 2009; 5: 8-9.
75. Hypponen E, Sovio U, Wjst M, Patel S, Pekkanen J, Hartikainen AL, Jarvelinb MR. Infant vitamin D supplementation and allergic conditions in adulthood: northern Finland birth cohort 1966. *Ann N Y Acad Sci* 2004; 1037: 84–95.
76. Gale CR, Robinson SM, Harvey NC, Javaid HK, Jiang B, Martin CN, et al. Maternal vitamin D status during pregnancy and childhood outcomes. *Eur J Clin Nutr* 2008; 62: 68–77.
77. Ginde AA, Mansbach JM, Camargo CA. Association between serum 25-hydroxyvitamin D level and upper respiratory tract infection in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Intern Med* 2009; 169: 384-390.
78. Ginde AA, Mansbach JM, Camargo CA. Vitamin D, respiratory infections and asthma. *Current Allergy and Asthma Reports* 2009; 9; 81-87.
79. Jackson DJ, Gangnon RF, Ewans MD, Roberg KA, Anderson EL, Pappas TE, et al. Wheezing rinovirus illnesses in early life predict asthma development in high risk children. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 178: 667-672.
80. Brehm JM, Schuemann B, Fuhlbrigge AL, Hollis BW, Strunk RC, Zeiger RS, et al. Serum Vitamin D levels and severe asthma exacerbations in the Childhood Asthma and Management Program study. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 126: 52-58.
81. Xystrakis E, Kusumakar S, Boswell S, Peek E, Urry Z, Richards DF, et al. Reversing the defective induction of IL-10-secreting regulatory T cells in glucocorticoid-resistant asthma patients. *J Clin Invest* 2006; 116: 146-155.

82. Searing DA, Zhang Y, Murphy J, Hauk PJ, Goleva E, Leung DY. Decreased serum vitamin D levels in children with asthma are associated with increased corticosteroid use. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 125: 995-1000.
83. Zhang Y, Goleva E, Leung DY. Vitamin D enhances glucocorticoid-induced mitogenactivated protein kinase phosphatase-1 (MKP-1) expression and their antiproliferative effect in peripheral blood mononuclear cells. *J Allergy Clin Immunol* 2009; 123: 121.
84. Taback SP, Simons FER. Anaphylaxis and Vitamin D: a role for the sunshine hormone? *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120: 128-130.
85. Vassallo MF, Camargo C. Potential mechanisms of the hypothesized link between sunshine, vitamin D and food allergy in children. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 126: 217-222.
86. Miller J, Gallo RL. Vitamin D and innate immunity. *Dermatologic Therapy* 2010; 23: 13-22.
87. Hata TR, Kotol P, Jackson M, Nguyen M, Paik A, Udall D, et al. Administration of oral vitamin D induces cathelicidin production in atopic individuals. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 122: 828-831.
88. Jones G, Strugnell SA, DeLuca HF. Current Understanding of the Molecular Actions of Vitamin D. *Physiol Rev* 1998; 78: 1193-1231.
89. Miyamoto K, Kesterson RA, Yamanoto H, Taketani Y, Nishiwaki E, et al. Structural organization of the human vitamin D receptor chromosomal gene and its promoter. *Mol Endocrinol* 1997; 11: 1165-1179.
90. Huang MC, Seyer JM, Thompson JP, Spinella DG, Cheah KS, Kang AH: Genomic organization of the human procollagen alpha 1 (II) collagen gene. *Eur J Biochem* 1991; 195: 593-600.
91. Takahashi E, Hori T, Sutherland GR. Mapping of the human type II collagen gene (COL2A1) proximal to fra(12) (q13.1) by nonisotopic in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet* 1990; 54: 84-85.

92. Issa LL, Leong GM, Eisman JA. Molecular mechanism of vitamin D receptor action. *Inflamm Res* 1998; 47: 451-475.
93. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF (eds). *Thompson and Thompson Genetics in Medicine*. 6th edition. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2001: 221-222.
94. Topaloğlu AK. Vitamin D Reseptör Polimorfizmi ve Hastalıklar. *Turkiye Klinikleri J Peditr Sci* 2012; 8: 79-81.
95. Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E. Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 289: 8-28.
96. Gross C, Krishnan AV, Malloy PJ, Eccleshall TR, Zhao XY, Feldman D. The vitamin D receptor gene start codon polymorphism: a functional analysis of Fok I variants. *J Bone Miner Res* 1998; 13: 1691-1699.
97. Morrison NA, Yeoman R, Kelly PJ, Eisman JA. Contribution of trans-acting factor alleles to normal physiological variability: vitamin D receptor gene polymorphism and circulating osteocalcin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 6665-6669.
98. Valdivielso JM, Fernandez E. Vitamin D receptor polymorphisms and diseases. *Clin Chim Acta* 2006; 371: 1-12.
99. Zmuda JM, Cauley JA, Ferrell RE. Molecular epidemiology of vitamin D receptor gene variants. *Epidemiol Rev* 2000; 22: 203-217.
100. Uitterlinden AG, Fang Y, Bergink AP, van Meurs JB, van Leeuwen HP, Pols HA. The role of vitamin D receptor gene polymorphisms in bone biology. *Mol Cell Endocrinol* 2002; 197: 15-21.
101. Bijanzadeh M, Mahesh PA, Ramachandra NB. An understanding of the genetic basis of asthma. *Indian J Med Res* 2011; 134: 149-161.
102. Hansdottir S, Monick MM, Lovan N, Powers L, Gerke A, Hunninghake GW. Vitamin D decreases respiratory syncytial virus induction of NF-kappaB-linked chemokines and cytokines in airway epithelium while maintaining the antiviral state. *J Immunol* 2010;184: 965-974.



103. Raby BA, Silverman EK, Lazarus R, Lange C, Kwiatkowski DJ, Weiss ST. Chromosome 12q harbors multiple genetic loci related to asthma and asthma related phenotypes. *Hum Mol Genet* 2003; 12: 1973–1979.
104. Wjst M, Fischer G, Immervoll T, Jung M, Saar K, Rueschendorf F, et al. A genome-wide search for linkage to asthma. *Genomics* 1999; 58: 1–8.
105. Malerba G, Lauciello MC, Scherpbier T, Trabetti E, Galavotti R, Cusin V, et al. Linkage analysis of chromosome 12 markers in Italian families with atopic asthmatic children. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 1587–1590.
106. Raby BA, Lazarus R, Silverman EK, Lake S, Lange C, Wjst M, et al. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with childhood and adult asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170: 1057–1065.
107. Poon AH, Laprise C, Lemire M, Montpetit A, Sinnett D, Schurr E, et al. Association of vitamin D receptor genetic variants with susceptibility to asthma and atopy. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 170: 967–973.
108. Wjst M. Variants in the vitamin D receptor gene and asthma. *BMC Genet* 2005; 15: 2.
109. Anderson PH, May BK, Morris HA. Vitamin D metabolism. New concepts and clinical implications. *Clin Biochem* 2003; 24: 13–26.
110. Kunisaki KM, Niewoehner DE, Connett JE. COPD Clinical Research Network. Vitamin D levels and risk of acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease: a prospective cohort study. *Am J Respir Crit Care Med* 2012; 185: 286–290.
111. Machura E, Brus R, Kalaciniński W, Lacheta M. The effect of dietary fish oil supplementation on the clinical course of asthma in children. *Pediatr Pol* 1996; 71: 97–102.
112. Brehm JM, Acosta-Pérez E, Klei L. Vitamin D insufficiency and severe asthma exacerbations in Puerto Rican children. *Am J Respir Crit Care Med* 2012; 186: 140–146.
113. Baydar O. Astım gelişiminde D vitamininin rolü. Uzmanlık Tezi. Adana, 2012.

114. Freishtat RJ, Iqbal SF, Pillai DK. High prevalence of vitamin D deficiency among inner-city African American youth with asthma in Washington, DC. *J Pediatr* 2010; 156: 948–952.
115. Chinellato I, Piazza M, Sandri M, Peroni D, Piacentini G, Boner AL. Vitamin D serum levels and markers of asthma control in Italian children. *J Pediatr* 2011;158: 437–441.
116. Alyasin S, Momen T, Kashef S, Alipour A, Amin R. The relationship between serum 25 hydroxy vitamin d levels and asthma in children. *Allergy Asthma Immunol Res* 2011; 3: 251–255.
117. Bener A, Ehlayel MS, Tulic MK, Hamid Q. Vitamin D deficiency as a strong predictor of asthma in children. *Int Arch Allergy Immunol* 2012; 157: 168–175.
118. Uysalol M. Childhood asthma and vitamin D deficiency in Turkey: is there cause and effect relationship between them? *Ital J Pediat* 2013; 39: 78.
119. [www.mgm.gov.tr/FILES/resmi-istatistikler/turkiye-gunluk-guneslenme-suresi-7.pdf](http://www.mgm.gov.tr/FILES/resmi-istatistikler/turkiye-gunluk-guneslenme-suresi-7.pdf)
120. American Academy of Pediatrics. Clinical Report: Prevention of Rickets and Vitamin D Deficiency: New Guidelines for Vitamin D. *Pediatrics* 2003; 111: 908-11.
121. Saadi A, Gao G, Li H, Wei C, Gong Y, Liu Q. Association study between vitamin D receptor gene polymorphisms and asthma in the Chinese Han population: a case-control study. *BMC Med Genet* 2009; 21: 71.
122. Maalmi H, Sassi FH, Berraies A, Ammar J, Hamzaoui K, Hamzaoui A. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with susceptibility to asthma in Tunisian children: a case control study. *Human Immunology* 2013; 74: 234–240
123. Vollmert C, Illig T, Altmüller J, Klugbauer S, Loesgen S, Dumitrescu L, et al. Single nucleotide polymorphism screening and association analysis—exclusion of integrin beta 7 and vitamin D receptor (chromosome 12q) as candidate genes for asthma. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 1841–1850.
124. Fang WL, Gao LB, Liang WB, Xue H, Bai P, Lv ML, et al. Association analysis of vitamin D receptor gene polymorphisms in Chinese population with asthma. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2009; 8: 141–147.

125. Li F, Jiang L, Willis-Owen SA, Zhang Y, Gao J. Vitamin D binding protein variants associate with asthma susceptibility in the Chinese Han population. *BMC Med Genet* 2011; 12: 103.
126. Pillai DK, Iqbal SF, Benton AS, Lerner J, Wiles A, Foerster M, et al. Associations between genetic variants in vitamin D metabolism and asthma characteristics in young African Americans: a pilot study. *J Investig Med* 2011; 59: 938–946.
127. Deng HW. Population admixture may appear to mask, change or reverse genetic effects of genes underlying complex traits. *Genetics* 2001; 159: 1319–1323.
128. Bossé Y, Lemire M, Poon AH, Daley D, He JQ, Sandford A, et al. Asthma and genes encoding components of the vitamin D pathway. *Respir Res* 2009; 24: 98.
129. Hayes CE, Nashold FE, Spach KM, Pedersen LB. The immunological functions of the vitamin D endocrine system. *Cell Mol Biol* 2003; 49: 277–300.
130. Hirschhorn JN, Lohmueller K, Byrne E, Hirschhorn K. A comprehensive review of genetic association studies. *Genet Med* 2002; 4: 45–61.
131. Hibler EA, Jurutka PW, Egan JB, Hu C, LeRoy EC, Martinez ME, et al. Association between polymorphic variation in VDR and RXRA and circulating levels of vitamin D metabolites. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010; 121: 438–441.
132. Smolders J, Damoiseaux J, Menheere P, Tervaert JW, Hupperts R. Fok-I vitamin D receptor gene polymorphism (rs10735810) and vitamin D metabolism in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol* 2009; 207: 117–121.
133. Holick MF, Chen TC. Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. *Am J Clin Nutr* 2008; 87: 1080-1086.
134. Agrawal T, Gupta GK, Agrawal DK. Vitamin D deficiency decreases the expression of VDR and prohibitin in the lungs of mice with allergic inflammation. *Experimental and Molecular Pathology* 2012; 93: 74-81.
135. Wada k, Tanaka H. Vitamin D expression is associated with colon cancer in ulcerative colitis. *Oncology Reports* 2009; 22: 1021-1025.

- 136.** Ogunkolade BW, Boucher BJ. Vitamin D receptor (VDR) mRNA and VDR protein levels in relation to vitamin D status, insulin secretory capacity, and VDR genotype in Bangladeshi Asians. *Diabetes* 2002; 51: 2294-2312.
- 137.** Dong H, Zhao H, Liu L, Liang Z, Lv Y, Cai S. Effect of 25-hydroxyvitamin D(3) on vitamin D receptor expression and distribution in human bronchial epithelial cells in vitro. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Bao* 2012; 32: 28-31.

## 6. EKLER

### EK 1.

#### HASTA VE KONTROL GRUBU İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Fırat üniversitesi Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniğinde yapılacak olan bu çalışmanın amacı; astım tanısı konulmuş hastalarımızda vitamin D düzeyini belirlemek ve kalıtsal olarak vitamin D reseptör polimorfizmi olup olmadığını tespit etmektir.

Bu çalışmada size/çocuğunuza ek hiçbir girişim yapılmadan rutin tetkik amacıyla damar yolundan alınacak kanlarınıza ilaveten sizin rızanızla 2 ml kan alınacaktır. Sizden alınan kan örneğinden 25-OH vitamin D düzeyi ve vitamin D reseptör gen polimorfizmi çalışılacaktır. Araştırmaya davet edilmenizin nedeni çocuğunuzda astım hastalığının bulunmasıdır. Bu hasta grubunda vitamin D eksikliği olabilmektedir.

Siz/çocuğunuz tamamen sağlıklısınız. Hastanemize genel tarama amacıyla başvurmuş bulunmaktasınız. Fakat sağlıklı çocuklarda da zaman zaman beslenme düzensizliklerinden dolayı vitamin D eksikliği görülmekte ve bazen gözden kaçmaktadır. Yapılan rutin tetkikleriniz sırasında çocuğunuzdan alınacak 2 cc kan ile vitamin D düzeyi ve vitamin D reseptör gen polimorfizmi çalıştırılacak ve böylece sağlıklı gruplardaki normal değerler de tespit edilecektir.

Sizlerin bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz, araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecek ve size ek bir ödeme de yapılmayacaktır, katılmayı reddettiğiniz takdirde size uygulanan tanısal ve tedavi yaklaşımında herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekme hakkına da sahipsiniz.

#### **Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler:**

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

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

Ancak bunlardan en az zarar görmeyi sağlamak için elimizden geleni yapacağız. Çalışma sırasında ortaya çıkabilecek sonuçlar ve gelişebilecek sorunlar katılımcının kendisine ve sorumlusuna iletilecektir.

Bu bilgilendirmeden sonra araştırmaya katılmak isterseniz ilgili formu imzalayınız.

### **Katılımcının/Ailesinin Beyanı**

Sayın Doç. Dr. Mehmet KILIÇ başkanlığında Sayın Dr. Sema ECİN BARAN tarafından Fırat Üniversitesi Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı'nda "Çocuklarda astım ile vitamin D düzeyi ve vitamin D reseptör gen polimorfizmi arasındaki ilişki" adlı tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler tarafımıza aktarıldı. Bu bilgilendirmeden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" olarak davet edildim. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi. Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemin uygun olacağını bilincindeyim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır. İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim). Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dr. Sema ECİN BARAN'a 05346763063 ve F.Ü Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları'ndan arayabileceğimi biliyorum. Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başımıza belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" olarak yer alma kararını aldım. İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

<b>Katılımcının</b>	<b>Görüşme tanığı</b>	<b>Katılımcı ile görüşen hekim</b>
Adı soyadı, unvanı:	Adı soyadı, ünvanı:	Adı soyadı, ünvanı:
Adres:	Adres:	Adres:
Tel:	Tel:	Tel:
İmza:	İmza:	İmza:

## EK 2.

### KATILIMCI DEĞERLENDİRME FORMU

Ad Soyad: Tarih:  
Yaş: Dosya No:  
Cinsiyet: Telefon:  
Adres:

- 1 Astım semptom başlama yaşı:
- 2 Anne, baba ve kardeşte astım var mı? :
- 3 Hiç vitamin D kullanmış mı?(süt çocukluğu veya sonrası dönem) :
- 4 Ailede vitamin D kullanan var mı? :
- 5 Süt çocukluğu döneminde beslenme öyküsü(Ane sütü, Ek gıda):
- 6 Kullandığı ilaç(sistemik steroid?):
- 7 Şimdiye kadar kaç astım atağı geçirdi?  
1-Kaçında hastanede yattı? A)Yoğun bakım:  
B) Servis:  
2-Kaçında ayaktan tedavi aldı? :
- 8 Doğum öyküsü: (C/S-NSVY, Miad-hafta, gr)
- 9 Kronik hastalığı var mı? :
- 10 Atopi öyküsü var mı? :

#### FİZİK MUAYENE:

Vücut ağırlığı: ( p) BMI:  
Boy: ( p)

#### LABORATUVAR:

##### Rutin tetkikler:

Ig E: Ca: Mg:  
Eoz %: P: PTH:  
AES: ALP:

**Reversibliteli Solunum Fonksiyon Testi:**

FEV1: ( % )

FVC: ( % )

FEV1/FVC: ( % )

PEF: ( % )

MEF 25-75: ( % )

**FeNO:**

**Deri Testi:**

**Çalışma için planlanan tetkikler:**

25-OH vitamin D:

Vitamin D reseptör gen polimorfizmi:



## 7. ÖZGEÇMİŞ

08.10.1985 tarihinde Malatya’da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Abdulkadir Eriş İlköğretim Okulu’nda tamamladım. Lise eğitimimi Yabancı Dil Ağırlıklı Hacı Ahmet Akıncı Lisesi’nde aldım ve okulu birincilik ile bitirdim. Üniversite eğitimime İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesinde başladım ve 2009 yılında mezun oldum. 2009-2010 yılları arasında Malatya Hekimhan Kurşunlu Sağlık Ocağında çalıştım. Temmuz 2010 yılında uzmanlık eğitimime Fırat Üniversitesi Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.B.D.’da başladım.