

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

KURU TOZ İNHALER BUDESONİD TEDAVİSİNİN  
BRONŞİAL ASTMALI ÇOCUKLARDA  
SERUM ECP VE sVCAM-1 DÜZEYLERİNE ETKİSİ  
VE BUNUN ASTMA KLİNİĞİ, SOLUNUM FONKSİYONLARI,  
BRONŞ HİPERREAKTİVİTESİ İLE  
İLİŞKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr.İshak Abdurrahman IŞIK

UZMANLIK TEZİ

ANKARA  
1998

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

KURU TOZ İNHALER BUDESONİD TEDAVİSİNİN  
BRONŞİAL ASTMALI ÇOCUKLARDA  
SERUM ECP VE sVCAM-1 DÜZEYLERİNE ETKİSİ  
VE BUNUN ASTMA KLİNİĞİ, SOLUNUM FONKSİYONLARI,  
BRONŞ HİPERREAKTİVİTESİ İLE  
İLİŞKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr.İshak Abdurrahman IŞIK

UZMANLIK TEZİ

ANKARA  
1998

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

KURU TOZ İNHALER BUDESONİD TEDAVİSİNİN  
BRONŞİAL ASTMALI ÇOCUKLARDA  
SERUM ECP VE sVCAM-1 DÜZEYLERİNE ETKİSİ  
VE BUNUN ASTMA KLİNİĞİ, SOLUNUM FONKSİYONLARI,  
BRONŞ HİPERREAKTİVİTESİ İLE  
İLİŞKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr.İshak Abdurrahman IŞIK

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Gönül ADALIOĞLU

ANKARA  
1998

## ÖZET

Bu çalışma yaşları 6.5-16 arasında değişen 19 bronşial astmalı hasta ve 10 sağlıklı kontrol ile yapıldı. Hastalara 6 hafta süreyle 1200 mikrogram/gün bölünmüş iki dozda budesonid kuru toz inhaler (Pulmicorte Turbuhaler<sup>R</sup>) verildi. Tedavi öncesi ve sonrası hastaların semptom skorları, bronkodilatör ilaç ihtiyaçları, PEF, FEV-1 ve BHR ölçümleri ile serum total IgE, total eozinofil, ECP ve sVCAM-1 düzeyleri ölçüldü. Bu değerler sağlıklı kontroller ile karşılaştırıldı.

Budesonid tedavisi sonrasında hastaların semptom skoru, bronkodilatör ihtiyaçları, PEF ve BHR ölçümlerinde düzelme tesbit edildi. FEV-1'de bir miktar yükselme tesbit edilmesine rağmen bu yükselme istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Total IgE, total eozinofil, serum ECP ve sVCAM-1 düzeyleri hastalarda kontrol grubuna göre belirgin olarak yüksek saptanırken, PC20 hasta grubunda belirgin olarak daha düşük bulundu. Serum ECP düzeyinin tedavi sonrasında anlamlı olarak düştüğü buna rağmen sVCAM-1 düzeyinin tedavi ile değişmediği görüldü. Ayrıca serum ECP düzeyi ile PC20 arasında negatif bir korelasyon gözlemlendi.

Bu bulgular ışığında, serum ECP düzeyinin astmadaki inflamasyonun iyi bir göstergesi olabileceği düşünüldü. Bununla birlikte bronşial astmada serum sVCAM-1 düzeyinin arttığı fakat hastalığın kliniği ile uyumlu olarak değişmediği görüldü. Serum sVCAM-1 düzeyi takibi ile objektif olarak hastalığın durumu ve inflamasyonun takibinin yapılamayacağı düşünüldü.

Ayrıca budesonidin kuru toz inhaler formunun bronşial astma tedavisinde etkili bir ilaç olduğunu, hastalarda klinik şikayetleri belirgin olarak azalttığını söyleyebiliriz.

Anahtar kelimeler: Budesonid, bronşial astma, sVCAM-1, tedavi, ECP.

## ABSTRACT

Inhaled glucocorticoids, due to their anti-inflammatory effects, have been largely used in the treatment of bronchial asthma. It is known that they are safe and effective drugs. In this study, the efficacy of dry powder inhaler form of budesonide and its effect on serum sVCAM-1 levels are studied. Nineteen patients with bronchial asthma and 10 healthy controls are involved in the study. Budesonide (Pulmicorte Turbuhaler<sup>®</sup>) (1200 microgram/day in two divided doses) is given to the study group for 6 weeks. At the end of the treatment period bronchodilator consumption was reduced, PC20 and PEF were increased. Serum IgE levels, total eosinophil count and serum ECP levels were significantly higher in study group compared to the control group. Although budesonide treatment resulted in an increase in FEV-1 this increase was not statistically significant. After treatment a significant decrease in serum ECP levels was observed. Both pre and posttreatment levels of sVCAM-1 were significantly higher in asthmatics compared to the controls. Budesonide treatment failed to cause any decreases in serum sVCAM-1 levels in asthmatics.

Although serum sVCAM-1 levels are elevated in bronchial asthma, its levels do not correlate with symptomatic improvement. Dry powder inhaler form of budesonide is safe and effective in childhood bronchial asthma.

Keyword: Budesonid, bronchial asthma, sVCAM-1, treatment, ECP.

## İÇİNDEKİLER

1-Özet.....	iii
2-Abstract.....	iv
3-İçindekiler.....	v
4-Kısaltmalar.....	vi-vii
5-Giriş.....	1-2
6-Genel Bilgiler.....	3-25
7-Materyal ve Metod.....	26-35
8-Bulgular.....	36-46
9-Tartışma.....	47-55
10-Sonuçlar.....	56-57
11-Kaynaklar.....	58-71
12-Ek-1: Günlük gözlem formu	

## KISALTMALAR

BAL: Bronkoalveolar lavaj

BHR: Bronş hiperreaktivitesi

ECP: Eozinofil katyonik protein

ELAM-1: Endotelial lökosit adezyon molekülü-1

EPO: Eozinofil peroksidaz

EPX: Eozinofil protein X

FEV-1: Birinci saniyedeki zorlu ekspiratuvar volüm

FVC: Zorlu vital kapasite

GM-CSF: Granülosit- makrofaj koloni stimüle edici faktör

GR: Glukokortikoid reseptörü

GRE: Glukokortikoid "responce element"

hsp: "Heat shock protein"

IFN: İnterferon

IL: İnterlökin

ICAM-1: İntersellüler adezyon molekülü-1

LT: lökotrien

LAM-1: Lökosit adezyon molekülü-1

LFA: "Lymphocyte function associated antigen"

MHC: "Major histocompatibilite complex"

NED: Nötral endopeptidaz

PAF: Platelet aktive edici faktör

PC20: FEV-1'de % 20'lik düşüŖe neden olan metakolin konsantrasyonu

PEF: Zorlu ekspiratuvar volüm

PG: Prostaglandin

VCAM-1: "Vascular cell adhesion molecule-1"

sVCAM-1: "Soluble VCAM-1"



## GİRİŞ

Astma kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Çocukluk çağı kronik hastalıkları arasında ilk sırayı alır(1).Daha önce astmanın sadece bronkospazm ile giden bir hastalık olduğu düşünülmekteydi. Bu nedenle, 1950'lere kadar adrenalin, atropin ve teofilin gibi bronkodilatör ilaçlar tedavinin temelini oluşturmuşlardır (2). Daha sonra kortikosteroidler gündeme gelmiştir. Başlangıçta, sadece çok ağır vakalarda, dikkatli olarak kullanıldı. Hastaların bu tedaviye çok iyi cevap verdiği ve bunun ilacın anti inflamatuvar etkisinden kaynaklandığı düşünüldü.Daha sonra, astma hastalarının bronşlarının ataklar arasında da normal bronş yapısından farklılık gösterdiği anlaşıldı (2). Teknolojideki ilerleme ile birlikte, bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvıları ve bronş biyopsileri kolaylıkla alınıp inceleme imkanı bulundu. Böylece astmanın intermitan alevlenmelerle giden kronik inflamatuvar bir hava yolu hastalığı olduğu anlaşıldı (1). Bu gelişmelerin ışığında astmada anti-inflamatuvar tedavi gündeme geldi. Bilinen en etkili anti-inflamatuvar ilaçlar kortikosteroidlerdir (3). Ancak sistemik kullanımlarında oldukça fazla yan etkilerinin olması nedeniyle, topikal kullanıma elverişli olan inhale steroidler geliştirilmiştir. Bundan sonra inhale steroidler, çocukluk çağı astma hastalığında anti-inflamatuvar ajan olarak yaygın bir şekilde kullanıma girmişlerdir (1). Hava yolu inflamasyonuna eozinofiller, lenfositler, mast hücreleri ve makrofajlar neden olmaktadır. Bu hücrelerin en önemlisi eozinofillerdir. Eozinofiller salgıladıkları çeşitli mediatörler aracılığı ile bronş harabiyetine yol açmaktadırlar (4). Eozinofillerin dolaşımdan ayrılarak bronş mukozasına ulaşmalarının bir adezyon molekülü olan, Vascular cell adhesion molecule-1(VCAM-1) sayesinde olduğu son zamanlarda anlaşılmıştır (5). VCAM-1 adezyon moleküllerinin immünglobülin gen süperailisindendir ve eozinofiller selektif olarak VCAM-1 molekülüne bağlanmaktadır (5). İnterstisyel

akciğer hastalığı olanların bronko-alveolar lavaj sıvılarında ayrıca soluble VCAM-1 (sVCAM-1) bulunduğu gösterilmiştir (6). Bir kısım sVCAM-1'in serbest moleküller halinde dolaşımında bulunduğu da son zamanlarda anlaşılmıştır (7).

Çalışmamızın amacı, bir inhale steroid olan Budesonidin kullanıma yeni sunulan kuru toz inhaler formunun kullanımı ile serum sVCAM-1 düzeyinde değişiklik olup olmayacağını ve sVCAM-1'in bronşial inflamasyonun bir göstergesi olarak kullanılıp kullanılmayacağını araştırmaktır. Literatürde inhale steroid tedavisi ile sVCAM-1 ilişkisini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Aynı zamanda eozinofil aktivitesinin indirek göstergesi olan serum Eozinofilik katyonik protein (ECP) düzeyinin inhale budesonid tedavisi ile değişip değişmediğini ; şayet değişiklik olursa, bu değişikliğin serum sVCAM-1 düzeyi ile korelasyon gösterip göstermediğini araştırmak için planlanmıştır. Ayrıca budesonidin kuru toz inhaler formunun çocukluk çağı bronşial astma hastalığının aktivitesine etkisinin ve tedavideki etkinliğinin araştırılması planlanmıştır.

## GENEL BİLGİLER

### BRONŞİAL ASTMA

Astma, mast hücreleri, eozinofiller, T lenfositler, nötrofiller ve epitel hücreleri gibi pek çok hücre grubunun ve çeşitli inflamasyon mediatörlerinin rol aldığı, hava yollarının kronik inflamatuvar bir hastalığı olarak tanımlanmaktadır (1). Hava yollarında meydana gelen kronik inflamasyon sonucunda, değişik şiddette hava yolu obstrüksiyonu ortaya çıkmaktadır. Meydana gelen obstrüksiyon reversible bir obstrüksiyondur. Yani tedavi edildiği takdirde veya tedavi edilmeden kendiliğinden düzelmektedir. Hastalığın klinik bulgularından sorumlu olan da bu hava yolu obstrüksiyonudur. Ayrıca hava yollarında meydana gelen inflamasyon sonucunda hava yollarının çeşitli uyaranlara karşı duyarlılığı da artmaktadır (8).

#### Etiyoloji ve Patogenez

Bronşial astmada kronik hava yolu inflamasyonundan genetik ve çevresel faktörler sorumlu tutulmaktadır. Genetik faktörlerin başında gelen atopi bronşial astmada bilinen en önemli risk faktörüdür (9). Atopik bünyelilerde çevresel allerjenlere karşı aşırı miktarda IgE sentezlenir. Burrows ve arkadaşları (10) tarafından yapılan bir çalışmada artmış serum IgE düzeyi ile astma arasında yakın bir ilişkinin varlığı gösterilmiştir. Bununla birlikte atopiden sorumlu tek bir gen gösterilememiştir. Multiple genler ve çevresel faktörlerin etkileşimi sonucu atopinin ortaya çıktığı düşünülmektedir. 11. kromozomun kısa koluna lokalize bazı genlerin atopiden sorumlu olduğu gösterilmiştir (11). Atopik bünyelilerde yapılan çalışmalarda 11. kromozomun kısa kolundaki bu genlerin büyük oranda maternal kaynaklı olduğu gösterilmiştir (12). Benzer şekilde

5. kromozomun uzun kolunda lokalize bazı genlerin atopi ile ilişkili olduğu ve bu genlerin IgE yapımı ile allerjik inflamasyonda rol oynayan IL-4, IL-5, IL-13, GM-CSF, IL-6, IL-9, IL-12 gibi sitokinlerin, beta adrenerjik ve steroid reseptörlerinin setezini arttırdığı gösterilmiştir (13). Bunların yanında 6. kromozomun kısa kolunda 12., 13. ve 14. kromozomların uzun kollarında atopi ile ilişkili genlerin varlığı bilinmektedir (14). Burada oluşabilecek bazı bozuklukların atopi ve astmaya neden olabileceği varsayılmaktadır. Atopi bronşial astmada önemli bir risk faktörü olmakla birlikte, astma ile eş anlamlı değildir. Toplumda atopi prevalansı % 30-50 arasında değişmekte astma ise yaklaşık % 7-10 oranında görülmektedir (9). Bu da göstermektedir ki; astma, atopik kişilerin ancak bir kısmında ortaya çıkmaktadır.

Astma gelişmesinde genetik faktörlerin yanı sıra çevresel faktörlerin de önemli roller üstlendiği bilinmektedir. Aynı toplum kökenli insanlardan büyük şehirlerde yaşayanlarda astma ve allerji prevalansının arttığı gösterilmiştir (15). Modern yaşam akarlar gibi bazı allerjenlerle daha yoğun temasa neden oluyor olabilir. Yapılan çalışmalarda sigara dumanına maruz kalan bebeklerde astma sıklığının arttığı gösterilmiştir (16). Bir başka çalışmada da benzer sosyoekonomik düzeydeki toplumlarda hava kirliliğinin daha yoğun olduğu bölgede yaşayanlarda astma prevalansının daha yüksek olduğu bulunmuştur (17). Genetik faktörlerden bağımsız olarak çevresel faktörlerle karşılaşma yaşı da astma gelişmesini etkilemektedir. Sporik ve arkadaşları (18) tarafından yapılan bir çalışmada yaşamın ilk bir yılında karşılaşılan ev tozu akarı yoğunluğu ile astmanın ortaya çıkışı arasında paralellik bulunduğu gösterilmiştir. Bu da allerjenle erken karşılaşmanın önemini vurgulamaktadır. Duyarlanmış kişilerin duyarlı oldukları antijenlerle tekrar karşılaşmaları halinde hava yollarında kronik inflamasyon gelişir. Burada oluşan

inflamasyonda IgE önemli rol oynar. İster IgE aracılığı ile olsun, isterse non atopik olsun bronşial astmalı hastalarda ortaya çıkan fizyolojik bozuklukların ve dolayısıyla semptomların altında yatan nedeni hava yollarının kronik inflamasyonudur (9). Hava yolu inflamasyonunda lenfositler, makrofajlar, mast hücreleri ve eozinofiller rol oynar. Lenfositler kronik inflamasyonun modülasyonundan sorumludur. Mast hücreleri ve özellikle eozinofiller efektör hücrelerdir. Bronş mukozasında oluşan epitel deskuamasyonu, vazodilatasyon, ödem, bronkokonstriksiyon, müküs hipersekresyonu gibi reversible değişiklikler ve subepitelyal fibrozis, revaskülarizasyon, submukozal salgı bezleri hipertrofisi ve bronş düz kas hipertrofisi gibi kalıcı yapısal değişiklikler (remodelling) hep bu efektör hücreler aracılığı ile olmaktadır (19).

### **BRONŞ HİPERREAKTİVİTESİ (BHR)**

Bronş hiperreaktivitesi, astmanın temel özelliklerinden biridir. Hava yolları çeşitli uyarılara cevap olarak çaplarını değiştirebilen dinamik yapılardır. Egzersiz gibi hava ihtiyacının arttığı durumlarda hava yolları genişlerken; iritan gazlarla temas gibi durumlarda savunma amacı ile hava yolları daralır. Hava yollarının çapını değiştirebilme yeteneğine "bronşial reaktivite" denir (9). Astma ise hava yollarının çeşitli uyarılara karşı aşırı cevabı ile karakterizedir (20). Bu duruma "bronşial hiperreaktivite" denir. Bronşial astmada hava yolları, spesifik ve non-spesifik pek çok uyarana kolayca ve aşırı miktarda yanıt verme eğilimindedir. BHR'nin derecesi astmanın şiddeti ile doğru orantılıdır (21). Bununla birlikte BHR tesbit edilen her hastanın aynı zamanda astmasının olduğunu söylemek doğru değildir. Hopp ve arkadaşları (22) tarafından yapılan bir çalışmada astmalı çocukların tamamen normal ebeveynlerinde BHR tesbit edilmiştir. Atopi ile BHR arasında yakın bir ilişki vardır. Toplumda BHR

prevelansı %10.3 iken bu oran atopik bünyelilerde %33 olarak bulunmuştur (23). BHR bronşial astma dışında, bronkopulmoner displazi, solunum yolu enfeksiyonları, kistik fibroz, sarkoidoz, atopik dermatit (24), kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOA), bronşiektazi (25) gibi hastalıklarda da tesbit edilebilmektedir (21).

BHR, histamin ve metakolin gibi direk uyarılarla veya allerjen, egzersiz, hipo ve hiperozmolar sıvıların inhalasyonu, sülfürdioksit, lökotrien(LT)-B<sub>4</sub> ve bradikinin gibi indirek uyarılarla meydana gelebilir. BHR, ölçülebilen bir antitedir. Astma tanısının netleştirilmesi, hastalığın şiddetinin belirlenmesi, ilaç etkisi ve mekanizmasının belirlenmesi ve epidemiyolojik çalışmalarda astma prevelansının belirlenebilmesi amacıyla BHR ölçümleri yapılır. Bunun için bronkoprovakasyon testlerinden faydalanılır (21).

Bronkoprovakasyon iki şekilde yapılabilmektedir; direk veya farmakolojik (metakolin, histamin, asetilkolin) uyarılarla ya da indirek (egzersiz, non-izotonik solüsyon inhalasyonu, ökapnik veya soğuk hava inhalasyonu) uyarılarla. Farmakolojik uyarılar direk olarak bronş düz kasına etkili olurken, indirek uyarılar bazı mediatörlerin salınımına neden olarak bronkokonstrüksiyona sebep olurlar (26).

Farmakolojik ajanlardan metakolin ve histamin en sık kullanılanlardır. Metakolin parasempatomimetik bir ajandır ve bronş düz kasındaki muskarinik reseptörleri uyarır. Histamin ise bronş düz kasına direk etkisinin yanı sıra vagal stimülasyon yoluyla da etkili olur (21). Farmakolojik uyarılarla bronkoprovakasyon testi başlıca iki yöntemle uygulanmaktadır. Dozimetre yöntemi ve devamlı nebulizasyon yöntemi. Her iki yöntemde de hastalara belirli miktarda bronkokonstriktör inhale ettirilir. Her defasında inhale ettirilen doz artırılarak FEV-1 'de %20 veya daha fazla düşüşe neden olan ilaç dozu bulunmaya çalışılır (27). Dozimetre yönteminde bir nebulizatör yardımı ile (De

Vilbiss No:42 veya 646) her inspirasyonda belirli bir ilaç dozu hastaya inhale ettirilir (28). Devamlı nebulizasyon yönteminde ise bir nebulizatör yardımı ile farmakolojik ajanın sürekli ve sabit miktarda nebulizasyonu sağlanırken hastanın tidal solunumla ilacı inhale etmesi istenir (29). Her iki yöntemde de hastaya önce serum fizyolojik inhale ettirilir. Daha sonra her defasında bir önceki dozun iki katı konsantrasyona çıkılarak histamin veya metakolin inhalasyonu sağlanır. Her inhalasyondan sonra hastaya en az iki kez FEV-1 ölçümü yapılır ve bu işleme hastada istenilen miktar bronkokonstriksiyon sağlanıncaya kadar devam edilir (maksimum 9 basamak) (28,29). Bu ajanlarla ortaya çıkan bronkokonstriksiyon 20-30 dk. içerisinde spontan olarak düzelir veya bunun için kısa etkili bronkodilatörlerden faydalanılabilir. Bronkokonstrüksiyon süresinin kısa olması, bronkokonstruktör uyanı dozunun kontrol edilebilir olması ve geç faz yanıtının olmaması farmakolojik ajanlarla yapılan provakasyon testlerinin avantajları olarak sayılabilir. Bugün her iki yöntem de yaygın olarak kullanılmaktadır (21). Ayrıca her iki yöntemle de karşılaştırmalı olarak yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçların birbiriyle benzer olduğu gösterilmiştir (30).

Non-farmakolojik testler, egzersiz, soğuk hava inhalasyonu, ökapnik hiperventilasyon ve izotonik olmayan aerosol inhalasyonu gibi testlerden oluşmaktadır (26). Bütün bu testler hava yolu yüzey sıvısının ozmolaritesini değiştirme prensibi ile etkili olurlar (21).

Egzersiz provakasyon testi BHR'si olan çocuk ve yetişkin astmalılarda iyi standardize edilmiş bir bronkoprovakasyon testidir. Serbest koşu, tredmil veya egzersiz bisikleti ile uygulanabilmektedir. Egzersiz testinde kalp hızı 170/dk'nın üzerine veya yaş ve

cinsiyetine göre tahmini maksimum kalp hızının %85'inin üzerine çıkıncaya kadar 5-8 dk süreyle egzersize devam edilir ve hemen sonrasında ve beş dakika aralarla, egzersizden 20-30 dk sonrasına kadar solunum fonksiyon testleri yapılır. Çoğu araştırmacı FEV-1'de %15 ve daha fazla bir düşüş olduğunda testi pozitif kabul eder (21,31). Egzersiz testi ile farmakolojik testler arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir (31). Ökapnik soğuk ve kuru hava hiperventilasyonunun BHR için oldukça sensitif ve spesifik bir test olduğu bilinmektedir. Burun mandalı vasıtası ile burnu kapatılan hastanın %5 CO<sub>2</sub>'li bir gaz karışımını tek yönlü bir valf içeren aparat ile inhale etmesi istenir. FEV-1'de %10 ve daha fazla düşüş görülmesi durumunda test pozitif kabul edilir. Ancak burada hastanın performansı çok önem kazanmaktadır. Çünkü hastanın sürekli bir hiperventilasyon sağlaması gerekmektedir (26).

İzotonik olmayan aerosol inhalasyonunda ise distile su, hipertonic SF veya KCl solüsyonları kullanılmaktadır. Bu testte hasta eforuna gerek yoktur çünkü hastaların solüsyonu tidal solunum ile inhale etmeleri gerekmektedir. FEV-1'de %20'lik bir düşüş gerçekleşinceye kadar veya hastalar 15 ml solüsyon inhale edinceye kadar teste devam edilir. Bu testte distile su kullanıldığında, hipertonic SF 'in aksine BHR'de bir artış ve ayrıca geç faz reaksiyonunun geliştiği görülmektedir (21,26).

Metakolin ve histamin testlerinin sensitivitei çok yüksek olmasına karşın spesifitei düşüktür. Buna karşılık ozmolar testlerin sensitivitei düşük ancak spesifitei yüksektir (21). Cockroft ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada histamin inahalasyon testi ile semptomatik astması olan hastaların tamamında BHR tespit edilmiştir. Bununla birlikte mevsimsel astması olan hastaların sadece polen mevsiminde BHR gösterdiği, yine allerjik riniti olan ve göğüs semptomu olmayan hastaların %50'ye



yakın bir kısmında, kronik öksürüğü olan fakat bronşial astması olmayan hastaların da yarısında BHR olduğu tespit edilmiştir. Aynı çalışmada tamamen normal insanların da %3'ünde BHR tespit edilmiştir (32). Metakolin ile yapılan bir başka çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiş, semptomsuz çocukların %13.9'unda BHR tespit edilirken vizing öyküsü olan hastaların %35'inde FEV-1'de %20'lik düşüş sağlanamamıştır (33). Bütün bunlar göstermektedir ki, BHR her zaman astmanın varlığını göstermez. Aynı şekilde bronkoprovakasyon testinin bir kez normal bulunması astma tanısını tamamen ekarte ettirmez.

### **BHR Patogenezi**

Bronşial astmada kronik hava yolu inflamasyonunun bronş aşırı cevaplılığının en önemli nedeni olduğu bilinmektedir. İnflamatuvar hücre infiltrasyonu sonucu bazı mediatörlerin salınmasıyla vasküler permeabilite artar, mukozal ödem, bronş düz kas hipertrofisi ve submukozal fibrozis gelişir (remodelling). Bunun neticesinde hava yollarında daralma meydana gelir (19,31). Bazal hava yolu çapı küçük olan bu hastalarda bronkokonstrüktör uyarılara aşırı cevap verilmesi sonucunu doğurur (34). Kronik hava yolu inflamasyonu bronş epitel yıkımına neden olarak da BHR'ne neden olur. Epitel tabakası solunum sistemi savunmasında önemli roller üstlenir. Epitel harabiyeti sonucu ortadan kalkan bu koruyucu tabaka direk ve indirek uyaranların kolayca mukozaya ulaşmasına neden olur (9,34). Ayrıca epitel harabiyeti, epitel kökenli gevşetici faktör (Epitel Derived Relaxing Factor EpDRF) sentez ve salınımının azalmasına da neden olur. Sağlam epitel hücresinde yapılan bu madde bronş düz kasını gevşeterek bronkomotor tonusta rol alır (9,35). İnflamatuvar hücrelerden salgılanan yıkıma uğramış epitel hücrelerde sentezi artan ve bronkokonstriksiyon yaptığı bilinen

sülfidopeptid lökotrienlerin de artmış bronkokonstriktör yanıtta rolü olduğu gösterilmiştir (36).

Myelinsiz C-liflerinden salınan nöropeptidler de bronkomotor tonusta rol alırlar. Takikininler olarak da isimlendirilen bu nöropeptidler (Substance-P, Calcitonin gene-related peptide, Neurokinin-A) bronkokonstriktör yanıtın artmasına neden olurlar. Bu takikininler endotel tarafından salgılanan nötral endopeptidazlar (NED) aracılığı ile yıkılırlar. Bronş harabiyeti sonucu kolayca uyarılan sinir uçlarından salınan bu takikininlerin miktarı artarken, yine aynı nedenden ötürü salgılanan NED miktarında azalma olur. Bu da bronşial astmalılarda görülen BHR'nin önemli nedenlerinden biridir (9,27,34).Bütün bu mekanizmalar sonucunda hava yollarının duyarlılığı artmakta ve küçük uyarılar bile kolayca hava yollarında bronkokonstriktör yanıtı neden olabilmektedir.

### **HAVA YOLU OBSTRÜKSİYONU**

Hava yolu obstrüksiyonunun astmanın değişmez bir bulgusu olduğu yapılan otopsi çalışmaları ile ortaya konulmuştur (19). Hava yolu obstrüksiyonunu sadece düz kas kontraksiyonu ile açıklamak mümkün değildir. Çünkü bütün obstrüksiyonlar betamimetikler ile düzelmemektedir (27). Kronik inflamasyon sonucu makrofaj ve lenfosit infiltrasyonu, fibroblast proliferasyonu (myofibroblast halini alabiliyorlar), anjiogenez, konektif doku artışı (fibrozis) ve doku yıkımı olmaktadır. Makrofajlar kronik inflamasyonda önemli bir yer işgal etmekte çünkü biolojik olarak aktif pek çok ürün salgılamaktadırlar (proteazlar, oksijen metabolitleri, sitokinler, PAF, büyüme faktörleri, elastaz, lökotrienler). Yukarıda saydığımız etkilerin biraraya gelmesiyle ilerleyici doku hasarı meydana gelir ve arkasından da onarım mekanizmaları devreye girer (9,19,27,37). Doku onarımı granülasyon dokusu

ve sonrada inaktif fibroblastlardan, dens kollajenden ve elastik liflerden oluşan skar dokusu oluşumu ile sonuçlanabilir. Kollajen veya immünglobülin depolanması sonucu bazal membranda kalınlaşma (pseudo-thickening) meydana gelir. Düz kas hipertrofisi ve müköz salgı bezi hipertrofisi oluşur. Bütün bunlar astmada görülen kalıcı yapısal değişikliklerdir (remodelling). İnflamatuvar hücrelerden salınan çeşitli mediatörler de vazodilatasyona ve mikrovaskular sızıntıya yol açarak doku ödemeine neden olurlar. Ayrıca bronş lümenine sızan serum, müküs hipersekresyonu ve lümene dökülen hücreler müküs tıkaçları oluştururlar (9,19). Yukarıda saydığımız etkenler ve akut bronkokonstriksiyon astmada görülen hava yolu daralmasının en önemli sebepleridir. Akut bronkokonstriksiyon bronkodilatörlerle düzelirken diğerleri için düzenli anti-inflamatuvar tedaviye ihtiyaç vardır.

Hava yolu obstrüksiyonunun derecesini belirlemek için solunum fonksiyonlarından (SFT) faydalanılır. SFT'lerden en çok kullanılanları zirve akım hızı (PEF) ve zorlu ekspiratuvar akımlardır. PEF güçlü bir ekspirasyon sırasında ölçülebilen maksimum akımı ifade eder. PEF ölçümünün sabah ve akşam olmak üzere günde iki kez yapılması önerilmektedir. Astmalılarda BHR nedeniyle sabah ve akşam ölçümleri farklılık gösterir. Bu farklılığın miktarı BHR'nin derecesi hakkında fikir verir. Zirve akım hızı, zirve akım hızı ölçeri (peak flow meter) denilen aletler yardımı ile ölçülür ve büyük hava yollarının durumunu yansıtır.

Zorlu ekspiratuvar akımlar spirometre denilen aletler yardımı ile ölçülür. En çok kullanılan parametreler PEF, FVC (Zorlu vital kapasite), FEV-1 (Birinci saniyedeki zorlu ekspirasyon volümü), FEV-1/FVC, FEF-25-75 (orta akım hızı)'dır. FEV-1 büyük ve orta hava yolları, FEF-25-75 ise orta ve küçük hava yolları hakkında fikir verir. Bronşial

astmada bu akımlar düşük bulunur (26).

### **Eozinofiller ve astma**

Astmanın morfolojik olarak hava yolu inflamasyonu ile karakterize bir hastalık olduğunu yukarıda belirtmiştik (1). Son on yılda immünopatogenezi ile ilgili bilgilerimizde önemli artışlar olmuşsa da; astma halen patogenezi tam olarak aydınlatılamamış hastalıklardan biridir. Bronkoalveolar lavaj, bronşiyal biyopsi ve in-vitro çalışmalar hem allerjik hem de nonallerjik astmada mast hücreleri, T lenfositleri ve eozinofillerin bu inflamasyonun çok önemli parçaları olduğunu göstermiştir (38, 39). Yapılan çalışmalarda bronşial astması olan hastaların periferik kanlarında ve BAL sıvılarında belirgin olarak artmış eozinofil miktarı tesbit edilmiş (40) ve kan eozinofil sayısının BHR'nin derecesi ile korelasyon gösterdiği bulunmuştur (41). Astma nedeniyle ölen hastaların bronş mukozasında önemli miktarda aktive olmuş eozinofil olduğu gösterilmiştir (42). IL-3, IL-5 ve GM-CSF gibi sitokinler eozinofil yaşam süresini artırmaktadır (43). IL-3 ve GM-CSF diğer lökosit prekürsörleri üzerine de etkili olurken, IL-5 eozinofil için spesifiktir (44). Mast hücreleri ve T lenfositler salgıladıkları bu sitokinler aracılığı ile eozinofil matürasyonu, aktivasyonu ve inflamasyon bölgesine toplanmalarına neden olmaktadır (45,46).

Eozinofiller salgıladıkları proteinler ve lipid mediatörler ile astma patogenezinde rol oynarlar (42). Eozinofillerden salgılanan lipid mediatörler ( $LTC_4$ ,  $LTD_4$ , PAF) bronkokonstrüksiyon, mukus hipersekresyonu ve vasküler permeabilitede artışa neden olurlar.

Eozinofil granüllerinde başlıca dört protein tesbit edilmiştir. Bunlar Majör basik protein

(MBP), ECP, Eozinofil protein X (EPX) ve eozinofil peroksidaz (EPO)'dır (42). Daha önceden sentezlenmiş ve sitoplazmik granüllerde depolanmış olan bu proteinler eozinofillerin uyarılması ile birlikte salınırlar (9).

MBP, epitel hasarından sorumlu tutulmaktadır. Status astmatikus nedeniyle ölen hastaların bronş epitellerinde ülserler tespit edilmiş ve bu ülserlerin olduğu yerlerde MBP depozitlerinin olduğu görülmüştür. Oluşan bu ülserlere sekonder MBP'nin BHR'yi artırdığı tespit edilmiştir. Astmalı hastaların balgam ve BAL sıvılarında da yüksek miktarda MBP bulunmuştur. Yine bu hastalarda MBP miktarının astmanın şiddeti ve total eozinofil sayısı ile korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir (9,40,42,47).

ECP, MBP ile birlikte eozinofilik granüllerde depolanmaktadır (48). Allerjenle temastan 6-12 saat sonra kandaki konsantrasyonu artmaktadır (47,49). Semptomatik astmalılarda daha yüksek konsantrasyonda bulunmakta ve serum düzeyi FEV-1'deki değişiklik ile korelasyon göstermektedir (50). Tedavi sonrasında klinik düzelme ile birlikte ECP'nin serum konsantrasyonunda da azalma olduğu bildirilmektedir (51). EPX ile birlikte solunum yolu mukozası için sitotoksik etki göstermektedir (50). Bakterisidal etkisi olmamakla birlikte bazı parazitler için toksik olduğu bilinmektedir (48).

EPO ve EPX hava yolu mukozasında hasara yol açarak astma patogenezinde rol alır. EPO pnömositler için toksik etkiye sahiptir. Morfolojik olarak oluşturduğu hasar MBP ile benzerlik göstermektedir (48). EPX' in nörotoksik etkisi ön plandadır (48,50).

### **ADEZYON MOLEKÜLLERİ**

Adezyon molekülleri hücre yüzeyinde yapısal olarak bulunabilen, ya da bazı uyarılar ile hücre yüzeyinde beliren, hücrelerin birbirlerine ve ekstrasellüler matrikse bağlanmasını sağlayan glikoprotein yapısında moleküllerdir. İmmün/inflamatuvar

yanıtın oluşmasında her aşamada önemli roller üstlenirler (9, 52).

İnflamatuvar yanıtın ortaya çıkabilmesi için öncelikle lökositlerin o bölgede toplanmaları gerekmektedir. Bu olayın her basamağında hücre-hücre veya hücre-matriks adezyon ilişkisi vardır. Bu adezyonun sağlanması adezyon molekülleri sayesinde olmaktadır (52,53).

Adezyon molekülleri: Hücrelerin adezyonunu sağlarlar. Lökosit-endotel, lökosit-ekstrasellüler matriks adezyonunda rol alırlar. Lökositlerin intravasküler kompartmandan ekstravasküler bölgeye migrasyonunu sağlarlar. T lenfositlerin antijeni tanınmasına yardımcı olurlar. T hücre aktivasyonu için ko-stimülatuvar uyarı görevi yaparlar. Aktive olmuş lenfositlerin efektör mekanizmalarını uyarırlar. Hücre proliferasyonunu uyarırlar. Görüldüğü gibi adezyon moleküllerinin rolü sadece hücre adezyonu ile sınırlı olmayıp, bir dizi hücre fonksiyonları içermektedir (52).

Yapısal benzerliklerine göre üç grup adezyon molekülü tanımlanmıştır. Bunlar, integrinler, selektinler ve immünglobülin gen süperailisidir (9,52,53,54).

### **İntegrinler**

İntegrinler, non-kovalent bağlarla bağlanmış alfa ve beta polipeptid zincirlerinden oluşan heterodimer yapısındaki moleküllerdir (52,55). Ligand bağlayan bir ekstrasellüler parçası ve bir de hücre iskeletine bağlanan intrasellüler parçası vardır (55). Beta subünitesine bağlı olarak en az sekiz alt grup tanımlanmıştır. İntegrinler bütün hücrelerde bulunmaktadır. Lökosit transmigrasyonu, trombosit agregasyonu, doku onarımı ve tümör invazyonunda rol alırlar (9,52,55). Beta-1 integrinler laminin, fibronektin, tip I ve III kolajen ve vitronektin gibi bronşial bazal membranda yüksek konsantrasyonda bulunan proteinlere bağlanırlar. En fazla eozinofil, monosit ve memory T hücrelerince eksprese

edilmektedirler. Beta-1 integrinlerin ligandı VCAM-1'dir. Bronşial epitel için gereklidirler çünkü hücrelerinin bazal membrana bağlanmalarını sağlarlar. Beta-1 integrinlerden VLA-4 (Very Late Antigen) nötrofillerde bulunmazken eozinofillerde bulunurlar. Bunların VCAM-1'e bağlanması allerjik inflamasyondaki selektif eozinofilik infiltrasyona neden olur. Beta-2 integrinler LFA-1 (lymphocyte function associated antigen) p150,95 ve Mac1'dir. Makrofaj, monosit ve nötrofillerde bulunurlar. ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3'e bağlanırlar. Beta-2 integrinler daha çok hücre-hücre adezyonunda rol alırlar (9,53-55).

### **Selektinler**

Lökosit ve endotel yüzeyinde bulunan selektinler, inflamasyonun olduğu dokuda lökositlerin endotel yüzeyine bağlanmasını sağlarlar (52). C-tipi bir lektin bölgesi, epidermal büyüme faktörü benzeri bir modül ve bu ikisi arasında da dokuz kompleman regülatör modülden oluşurlar (56). Bugüne kadar üç üyesi tanımlanmıştır; P-selektin, L-selektin, E-selektin. P-selektin (GMP-140, Granule membrane protein-140kD), trombosit ve istirahat halindeki vasküler endotel hücrelerinde bulunurlar ve Weibel Palade cisimcikleri denilen granüllerde saklanırlar. Histamin, trombin veya kompleman komponentleri gibi inflamasyon mediatörlerince stimüle edilmeleri sonucu degranüle olurlar. Uyarıdan 10 dk. sonra dokuda maksimum konsantrasyona ulaşırlar (52,56,57).

L-selektin (leucocyte adhesion molecule, LAM-1), granülosit, monosit ve lenfositlerde bulunurlar. Lenfositlerin lenf nodu endoteline ve nötrofillerin de vasküler endotele bağlanmalarını sağlarlar (52,57).

E-selektin (Endothelial cell adhesion molecule, ELAM-1), sitokinlerce uyarılmış endotel hücrelerince eksprese edilir. Nötrofillerin adezyonu ve inflamasyon alanına migrasyonunu sağlarlar. Sialyl-Lewis x, karbohidrat yapısındadır ve E-selektin için reseptör görevi

yapmaktadır. Monosit, granülosit ve bazı akciğer ve kolon kanser hücrelerinde yapısal olarak bulunurlar (52). Endotel hücreleri IL-1, TNF ve bakterial endotoksin gibi uyarılarla uyanıldıklarında E-selektin ekspresyonunda artış olur. IFN-gamma tek başına E-selektin ekspresyonunu artırmaz ancak TNF'in neden olduğu E-selektin ekspresyonunun süresini uzatır (57).

Endotel hücre yüzeyinde bulunan E ve P selektinler inflamatuvar hücrelerdeki L-selektin ve Sialyl-Lewis x'e bağlanarak bu hücrelerin endotele adezyonunu sağlarlar. Ancak selektinler tarafından oluşturulan bu bağlanmalar oldukça zayıf ve labildir. Lökositlerin endotel yüzeyinde yuvarlanarak ilerlemelerini sağlar ve daha güçlü bağların oluşturulmasına olanak tanır (56).

### **İmmünglobülin Gen Süperailisi**

Bu ailenin üyeleri daha çok hücre-hücre etkileşiminde rol alırlar. Yapısal olarak immünglobülinlere benzemeleri nedeniyle bu ismi almışlardır (57, 58). İntersellüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1), ICAM-2, ICAM-3, VCAM-1, CD-3, CD-4, CD-8, MHC I ve II bu grupta yer almaktadır (57). Bu grubun allerjik inflamasyona katılan üyeleri, ICAM-1, ICAM-2 ve VCAM-1'dir (59).

### **İNTERSELLÜLER ADEZYON MOLEKÜLÜ-1 (ICAM-1)**

Deri, böbrek, karaciğer, timus, tonsiller, lenf nodları, hava yolları ve barsaklar gibi pek çok dokuda bulunmalarına rağmen, yoğun olarak inflamasyonlu dokuda ve vasküler endotelde bulunurlar (59,60). LFA-1 ve Mac-1 için esas ligand görevi görürler. Merkezde 55 kD ağırlığında bir polipeptid bulunduran, 76-114 kD ağırlığında zincir şeklinde bir glikoproteindir. Kısa bir sitoplazmik parçası, hidrofobik bir transmembranöz parçası ve immünglobülin benzeri beş ekstrasellüler parçası vardır. ICAM-1 geni 19.



kromozom üzerindedir (59).

Ciltte gecikmiş tip hipersensitivite bölgesindeki vasküler endotelde yoğun olarak bulunmaları, T hücre migrasyonunda rol aldıklarını düşündürmektedir. IFN-gamma, IL-1, TNF-alfa ve lipopolisakkaritler ICAM-1 ekspresyonunu değişik derecelerde arttırmaktadır (61). Uyarıdan sonra 2-4 saatte ekspresyonu başlar ve 24 saatte maksimuma erişir. Sitokin varlığında bu düzey 24-72 saat devam edebilir (59).

IL-5 eozinofil adezyonunu artırırken, nötrofil adezyonunu etkilememektedir. IL-5 bu etkisini ICAM-1 ekspresyonunu artırarak yapmaktadır. Aynı şekilde MBP de ICAM-1 ekspresyonunu arttırmaktadır. Bunlar da ICAM-1'in allerjik inflamasyondaki rolünü ortaya koymaktadır (59,62).

Allerjik inflamasyondaki rolüne ek olarak ICAM-1 viral enfeksiyonlarla astma atağının başlamasından da sorumlu tutulmaktadır. Çünkü ICAM-1 rinovirüslerin büyük bir grubu için yüzey reseptör görevi görmektedir (63).

#### **VASKÜLER HÜCRE ADEZYON MOLEKÜLÜ (VCAM-1)**

Esas olarak damar endotel hücrelerinde bulunan VCAM-1 110 kD ağırlığındadır (57). Uyarılmamış endotel yüzeyinde bulunmayan VCAM-1'in, ICAM-1 gibi IL-1 ve TNF-alfa gibi bazı sitokinlerle stimüle edildiğinde hücre yüzeyindeki sayıları artmaktadır (64-66).

1989 yılında E-selektin ve ICAM-1'in, lökositlerin endotel hücre yüzeyine bağlanmaları konusundaki rolleri tam olarak aydınlatıldı (57). Bundan sonra sitokine bağlı üçüncü bir adezyon molekülünün varlığı üzerinde yoğunlaşıldı. Bunun iki önemli nedeni vardı. Birincisi; periferik kan lökositlerinin uyarılmış endotele adezyonlarını sadece E-selektin ve ICAM-1 ile açıklamak mümkün değildi (65).

İkincisi ; bazı non-lenfoid tümör hücrelerinin (melanoma gibi) uyarılmış endotel yüzeyine adezyonları E-selektin ve ICAM-1'den bağımsız gibi görünüyordu (67). Bu aşamadan sonra , TNF ile uyarılmış endotele karşı geliştirilen bir monoklonal antikorun hem melanoma hücrelerinin (68) hem de periferik lenfositlerin (69)endotele adezyonunu engellediği görüldü . Daha sonra lenfosit adezyonunu sağlayan 6 - Ig domain molekül tanımlandı ve VCAM-1 olarak adlandırıldı (57). Endotel hücreleri IL-1 ve TNF'e VCAM-1 ekspresyonunu artırarak cevap verirler ve bu cevap 6-12 saatte maksimuma ulaşır (70). Bu yüksek VCAM-1 düzeyi ICAM-1'de olduğu gibi E-selektinin tersine daha uzun süre devam eder. IL-4 ile uyarılan endotel hücre yüzeyinde VCAM-1 sayısı artarken bu artış ICAM-1 ve E-selektinde görülmez (71). VCAM-1 endotel hücreleri dışında lenf nodu ve deride bulunan dendritik hücreler , kemik iliği stromal hücreleri ve inflamasyonlu eklemdaki sinoviyal hücreleri gibi non-vasküler hücre tiplerinde de eksprese edilmektedir (70) .

Endotel yüzeyindeki VCAM-1'in VLA-4 ile ilişkiye girerek lenfosit ve makrofajların adezyonunu sağladığı gösterilmiştir . Aynı etkiyi nötrofiller için sağlamadığı da aynı çalışmada görülmüştür (71-73) . VLA-4 VCAM-1'in yanısıra fibrinektine de bağlanmaktadır (74, 75) . Eozinofil ve bazofillerin de uyarılmış endotele adezyonu VCAM-1 sayesinde olmaktadır (72-78). VCAM-1 damar dışında da , B hücrelerinin lenf nodunda dendritik hücrelere bağlanması (79), lenfosit prekürsörlerinin kemik iliği stroma hücrelere adezyonu (80) ve non-hodgkin lenfoma hücrelerinin neoplastik foliküllere adezyonu (81) gibi olaylarda da rol almaktadır . Bir başka çalışmada da immatür kas hücrelerinin yüzeylerinde

de VCAM-1 ve VLA-4 ekspresyonunun varlığı gösterilmiş ve bunun üzerine VCAM-1'in myogenesisizde de rol aldığı üzerinde üzerinde durulmuştur (82).

VCAM-1 ekspresyonu IL-13 tarafından da spesifik olarak artırılmaktadır. IL-13 bu etkiyi ICAM-1 ve E-selektin için göstermemektedir (83). Uyarılmış endotel yüzeyinde eksprese edilen VCAM-1 molekülünün bir kısmı soluble VCAM-1 (sVCAM-1) şeklinde dolaşıma verilmektedir (7, 84, 85). Dolaşımdaki sVCAM-1 düzeyi konusunda çok az bilgi vardır. Serum sVCAM-1 düzeyinin kanser hastalarında ve inflamatuvar hastalığı olanlarda artış gösterdiği bildirilmiştir (84, 85). Adezyon molekülleri ve özellikleri Tablo:1'de özetlenmiştir.

Adezyon molekülleri broşial astma patogenezinde çok önemli roller üstlenmektedir. Lökositlerin inflamatuvar dokuda yer alabilmesi için çok önemli bir basamak olan lökosit ekstrasvazasyonu, endotel hücreleri ve lökositlerin adezyon molekülleri aracılığı ile direk etkileşimi sonucu gerçekleşmektedir (51,52). Lökosit ekstrasvazasyonunun ilk basamağı olan bu hücre-hücre etkileşimi selektinler tarafından kontrol edilmektedir. IgE aracılığı ile uyarılan mast hücrelerinden salınan mediatörler vazodilatasyona neden olurlar. Bunun sonucunda lökositler, kan akımının daha yavaş olduğu periferde toplanarak hareket ederler (marjinasyon). Damar endotel hücrelerinin ve dolaşımdaki hücrelerin sitokinler ve kimyasal mediatörlerle uyarılması adezyon moleküllerinin ekspresyonuna neden olur. Hücre ile endotel arasındaki ilk ilişki, hücre yüzeyinde bulunan L-selektin ve endotel yüzeyinde bulunan E-selektin ve P-selektin aracılığı ile gerçekleşmektedir (51-55). Oluşan bu bağlanma oldukça zayıf ve reversibledir. Selektinlerin etkileşmesi sonucu lökositler endotel yüzeyinde yuvarlanarak (rolling) hareket etmeye başlarlar (56). Bu zayıf bağlanmanın arkasından integrinler ve immünglobülin yapısındaki adezyon molekülleri

<u>Adezyon molekülü</u>	<u>Bulunduğu hücreler</u>	<u>Ligand</u>
<b><i>İNTEGRİNLER</i></b>		
LFA-1 (CD11a/CD18)	Tüm lökositler	ICAM-1 , ICAM-2
Mac-1 (CD11b/CD18)	Nötrofil, monosit	ICAM-1
p 150/95 (CD11c/CD18)	Granülosit,monosit	Fibrinojen
VLA-4 (Alfa4beta1)	Eozinofil , monosit , lenfosit	VCAM-1
<b><i>İMMÜNGLOBÜLİN AİLESİ</i></b>		
ICAM-1	Endotel , epitel , eozinofil	LFA-1 , Mac-1
ICAM-2	Endotel	LFA-1
VCAM-1	Endotel	VLA-4
LFA-2 (CD2)	Tüm lenfositler	LFA-3
LFA-3	Yaygın	LFA-2
<b><i>SELEKTİNLER</i></b>		
E-selektin (ELAM-1)	Endotel	Si Le x , L-selektin
P-selektin (GMP-140)	Endotel	Si Le x , L-selektin
L-selektin (LECAM-1)	Eozinofil , lenfosit , nötrofil	E ve P-selektin

**Tablo-1 :** Adezyon moleküllerinin genel özellikleri

devreye girer (LFA-1-ICAM-1 ; LFA-4-VCAM-1). Bu güçlü bağlar sonucunda lökositler tutulur ve transendotelial migrasyon gerçekleşir (diapedez) (51-55). İnterstisyel dokuya geçen lökositler integrinler aracılığı ile ekstrasellüler matriks proteinlerine (laminin, fibrinojen, kollajen) bağlanarak inflamasyonun olduğu bölgeye giderler (9). Selektif hücre göçünde ortamda bulunan sitokinlerin önemli rolü vardır. Th2 tip lenfositlerin allerjik

inflamasyondaki rolü bilinmektedir (2, 86, 87). Atopik astmalı hastaların BAL sıvılarında ağırlıklı olarak Th2 tip lenfositlerin varlığı gösterilmiştir (86). Th2 lenfositlerce salınan IL-4 ve IL-5 (87), selektif olarak eozinofilleri aktive eder (43, 62, 88). Bu etkilerini, eozinofillerde bulunan fakat nötrofillerde bulunmayan adezyon moleküllerinin (E-selektin, ICAM-1, LFA-4, VCAM-1) ekspresyonunu artırarak yaparlar (43, 62, 88)

## GLUKOKORTİKÖİDLER

Glukokortikoidler inflamatuvar hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bilinen en etkili anti-inflamatuvar ilaçlardır (3, 89,90). En önemli dezavantajları sistemik yan etkilerinin olmasıdır. Bu yan etkileri en aza indirmek için çeşitli kortizon ve hidrokortizon analogları geliştirilmiştir. Bunların kimyasal yapıları ve etki süreleri farklılık göstermektedir (Tablo-2). Daha da önemlisi bunların mineralokortikoid etkileri kortizondan çok daha düşüktür. Yeni sentetik analoglar geliştirilebilmesine rağmen, malesef sadece anti-inflamatuvar etki gösterip protein ve glukoz metabolizmaları üzerine istenmeyen etkileri göstermeyecek bir steroid analogu henüz sentezlenememiştir (36).

<u>Kortikosteroid</u>	<u>Anti-inflamatuvar doz</u>
<b>kısa etkili</b>	(mg)
hidrokortizon	20
prednizon	5
prednizolon	5
metilprednizolon	4
<b>orta etkili</b>	
triamsinolon	4
<b>uzun etkili</b>	
betametazon	0.6
deksametazon	0.75

Tablo-2 : Aynı anti-inflamatuvar etki için gerekli kortikosteroid dozları

## ETKİ MEKANİZMALARI

Glükokortikoidler gen ekspresyonunu değiştirerek etkili olurlar (89,91). Bu işlevi glukokortikoid reseptörüne (GR) bağlanarak yaparlar. Hücre sitoplazmasında yer alan GR, ancak glukokortikoid tarafından aktive edilirse hücre içerisine girer (3). GR tüm hücrelerde bulunmaktadır. En fazla alveol duvarında, vasküler endotelde ve daha az olarak da hava yolu epitelinde ve düz kas hücrelerinde bulunmaktadır (92). 800 aminoasitten oluşan tek tip GR tanımlanmaktadır. Karboksi ucuna glukokortikoid bağlanırken, diğer ucu ile DNA'nın ilgili bölümüne bağlanır (3). İnaktif haldeki GR, hsp 90 (heat shock protein) denilen bir protein kompleksine bağlı olarak bulunur. Hsp 90 GR'nün DNA ile birleşmesini engellemesinin yanı sıra glukokortikoid bağlanması için de gerekli olduğu bildirilmektedir. Hsp 90, GR-glükokortikoid bağlanması için gerekli ancak tek başına yeterli değildir (93).

Glükokortikoid tedavisi ile GR mRNA miktarının azaldığı gösterilmiştir (92). Glükokortikoidler GR mRNA miktarını gen transkripsiyonunu etkileyerek azaltmaktadır (94).

Glükokortikoid bağlanması ile aktive olan GR sitoplazmadan nükleusa geçerek DNA üzerindeki GRE (glucocorticoid response element) denilen bölgeye bağlanmaktadır. Daha sonra azaltmak veya arttırmak şeklinde transkripsiyonu düzenleyerek etkisini göstermektedir. GR direk olarak transkripsiyon üzerindeki etkisinin yanı sıra, diğer transkripsiyon faktörleri ile etkileşerek ve posttranskripsiyonel düzenleme ile de etkili olabilmektedir (3).

Glükokortikoidler, bronşial astmada inflamasyonun değişik basamaklarını baskılayarak etkili olmaktadır. IL-1, TNF, IL-2, GM-CSF, IL-3 ve IFN- gama gibi mediatörlerin

üretimleri glükokortikoidler tarafından baskılanmaktadır (91, 95). Bu etkilerini GR'nün GRE bölgesine bağlanması ile gen transkripsiyonunu baskılayarak gösterirler. Bazı mediatörlerin mRNA'sının yıkımını artırarak (IL-1, IL-3, GM-CSF) veya bazı sitokin (IL-2) reseptörlerinin sentezini inhibe ederek de etkili olmaktadır (3).

Lipokortin-1 fosfolipaz A<sub>2</sub>'yi baskılayarak, lökotrienler, prostaglandinler (PG) ve PAF gibi lipid mediatörlerin sentezini azaltmaktadır. Glükokortikoidlerin lipokortin-1 sentezini arttırdığı gösterilmiştir (96,97).

NED, bradikinin, takikinin, endotelin-1 gibi bronkokonstrüktör peptidlerin yıkımından sorumludur. Glükokortikoidler NED mRNA'sını artırarak bu peptidlerin yıkımını indirek olarak artırmaktadır (98).

Ayrıca glükokortikoidlerin beta-2 adrenerjik reseptör sayısını artırdıkları bilinmektedir (99).

Glükokortikoidler mast hücrelerinden mediatör salınımını etkilememektedirler. Ancak uzun süreli kullanımlarında mukozal mast hücre sayısında azalma olduğu gözlenmektedir. Bu etkilerini IL-3 üretimini baskılayarak yaptıkları düşünülmektedir. IL-5 üretimini baskılayarak eozinofil yaşam süresinin kılmasını sağladıkları bilinmektedir. Direk olarak adezyon moleküllerinin ekspresyonunu etkilememektedirler. Ancak sitokin üretimini baskılayarak adezyon moleküllerinin ekspresyonunu azaltmaktadırlar. Böylece bronşial astmada inflamatuvar hücrelerinin sayılarını ve aktivitelerini azaltmaktadırlar. Ayrıca harap olmuş bronş epitelinin düzelmesine ve goblet hücre hiperplazisinin geriye dönmesini sağlamaktadırlar (3,42,100).Hoshino ve arkadaşları (101) yaptıkları çalışmada, inhale steroidin bazal membranda lamina retikularisdeki kalınlaşmayı azalttığını göstermişlerdir. İn hale steroidlerin bu etkiyi insülin benzeri büyüme faktörünün (insulin like growth



factor) modülasyonu ile gösterdikleri düşünülmektedir.

**İnhale glukokortikoidler :** Ölçülü doz inhalerlerin (MDI) geliştirilmesinden sonra inhale glukokortikoidler astma tedavisindeki önemli yerlerini almışlardır. Bu aletler sayesinde glukokortikoidler direk solunum yollarına verilebilmekte ve böylece sistemik yan etkilerinden de önemli ölçüde korunulabilmektedir (21, 102). İnhale glukokortikoidler orta-ağır şiddetteki persistan astma tedavisinde ilk sırayı almaktadırlar (1).

İnhale glukokortikoidler, beklametazon dipropianat, triamsinolon asetonid, flunisolid, budesonid ve flutikazon propianattır. Flunisolid ve triamsinolon asetat dışındakiler ülkemizde bulunmaktadır.

**Budesonid :** İnhale steroidlerden farmakokinetiği hakkında en fazla bilgiye sahip olduğumuz budesoniddir. İntravenöz olarak uygulandığında plazma yarı ömrü 3 saat civarındadır. Plazma klerensi 1.4 L/dk/1.73m<sup>2</sup>'dir. % 80 oranında plazma proteinlerine bağlıdır. Oral kullanıldığında karaciğerde ilk geçişte metabolize olması nedeniyle ancak %10'luk bir kısmı sistemik dolaşıma geçmektedir. Budesonidin metabolitleri olan 6-beta-hidroksibudesonid ve 16-alfa-hidroksiprednizolon, budesonidin biyolojik aktivitesinin 1/100 'ünü gösterirler. 22S ve 22R olmak üzere iki epimeri vardır. 22S epimerinin plazma klerensi daha düşüktür (3).

İnhalasyon şeklinde alındıktan 15-45 dk sonra zirve konsantrasyona ulaşır. Akciğerlere ulaşan miktarın %70'i sistemik dolaşıma geçer ve plazma yarı ömrü 2 saattir. Akciğerlerde çok az metabolize olmaktadır (1).

Ülkemizde basınçlı ölçülü doz inhaler (Pulmicort<sup>R</sup>) ve kuru toz inhaler (Pulmicort Turbuhaler<sup>R</sup>) şekilleri mevcuttur.

## MATERYAL VE METOD

### Hastalar

Araştırmamıza Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi Allerji ve Astma Ünitesi polikliniğinde bronşial astma tanısıyla izlenen, yaşları 6.5 ile 16 arasında değişen 19 hasta katıldı. Aşağıdaki özelliklere sahip olan hastalar çalışmaya dahil edildi:

- En az bir yıldır allerji ve astma polikliniğinde astma tanısıyla izlenen ve 200 mikrogram salbutamol inhalasyonundan sonra FEV-1'de en az % 15'lik düzelme gösteren hastalar,
- Çalışmaya alınmadan önceki altı haftalık sürede astmanın stabil bir seyir izlediğinin ve solunum yolu enfeksiyonu geçirilmediğinin ifade edilmesi,
- Hastaların FEV-1 değerlerinin ön görülen değerlerin en az % 70' i olması,
- Hastaların en az altı haftadır inhale veya sistemik kortikosteroid kullanmamış olmaları,
- Solunum fonksiyon testlerinin (pletismografi ve spirometri) gerektirdiği manevraları yapabiliyor olmaları,
- Kuru toz inhaler ilaçları kullanabiliyor olmaları,
- Hastaların astma şiddetinde, çalışmaya alındıktan sonraki sekiz haftalık sürede bir değişiklik olmasının beklenmemesi (polen mevsimi, seyahat vb...)
- Hastalarda astma dışında sistemik başka bir hastalığın bulunmaması,

Kontrol grubu olarak da, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi polikliniğine başvuran yaşları 6 ile 13 arasında değişen sağlıklı 10 çocuk alındı. Kontrol grubuna alınan hastalarda şu özelliklerin bulunmasına dikkat edildi:

- Herhangi bir sistemik hastalıklarının olmaması,
- Çalışmaya katılmadan önceki altı haftalık sürede herhangi bir nedenle steroidli bir ilaç kullanmamış olmaları,
- Çalışmaya katılmadan önceki altı haftalık sürede herhangi bir üst veya alt solunum yolu enfeksiyonu geçirmemiş olmaları,

Ayrıca hem hasta hem de kontrol grubunda, hasta ve ebeveynlerinin; çalışmanın amaçları, katılmanın getireceği avantaj ve dezavantajları anlatıldıktan sonra, bu araştırmaya katılmakta arzulu olduklarını ifade etmeleri şartı aranmıştır.

Ayrıca hastaların ve kontrollerin üç gün arka arkaya alınan gaita örneklerinde parazit tetkikinin negatif olması şartı aranmıştır.

Vakaların seçimi, rutin poliklinik muayene ve kontrollerine gelen hastalardan gerekli koşulları sağlayanların çalışmaya dahil edilmesi şeklinde yapıldı. Araştırmaya alınması planlanan hastalara ve kontrollere genel allerjenlerle (süt, yumurta, kedi tüyü, köpek tüyü, çayır, ot ve ağaç polenleri ve akarlar) epidermal testler yapıldı. Böylece hastaların ve kontrollerin atopi durumları belirlenmeye çalışıldı.

## Çalışma protokolü

Araştırmamız, bir inhale steroid olan budesonidin kullanıma yeni sunulan kuru toz inhaler formunun bronş hiperreaktivitesi, solunum fonksiyonları, astma semptomları, serum ECP ve sVCAM-1 düzeyleri ile total IgE ve total eozinofil sayısını nasıl etkilediğini incelemek ve sVCAM-1'in bronşial inflamasyonun bir göstergesi olarak kullanılıp kullanılmayacağını araştırmak amacı ile kontrollü bir çalışma olarak planlandı. Toplam sekiz hafta olan çalışma süresinin ilk iki haftası ön izlem, sonraki altı haftası da tedavi süresi olarak öngörüldü. Ön izlem döneminde hastaların yalnızca ihtiyaç duyduklarında bronkodilatör (terbutalin veya salbutamol inhaler) kullanmalarına izin verilirken, tedavi döneminde ihtiyaç duyduklarında bronkodilatör kullanmalarının yanı sıra budesonid 200 mikrogram/puff (Pulmicort Turbuhaler<sup>R</sup>) 2X3 püskürtme düzenli olarak kullanmaları istendi. Hastaların çalışma boyunca, izin verilen kısa etkili bronkodilatör ve çalışma ilacı dışında başka astma ilacı kullanmamaları istendi.

Budesonidin solunum fonksiyonlarına ve BHR'ne etkisinin değerlendirilmesi; tedavi döneminin 0. ve 6. haftalarının sonunda yapılan metakolin duyarlılık testleri ile gerçekleştirildi. Sıfırıncı hafta başında elde edilen veriler hastaların bazal değeri olarak kabul edildi. Altıncı hafta sonunda elde edilen veriler ise tedavinin etkilerinin araştırılmasında kullanıldı.

Hastalardan 0. ve 6. haftaların sonunda;

-Eozinofil sayımı için,

-Tam kan sayımı için (CBC) EDTA'lı tüpe,

-sVCAM-1, ECP ve total IgE çalışmaları için 5-6 ml kan alınıp 60 dakika oda

ısısında pıhtılaşması için bekledikten sonra 10 dk. süreyle 1350 g'de santrifuj edildi ve parçalara ayrılarak serum analiz edilene kadar -20 °C'de saklandı. Ön izlem ve tedavi döneminde hastaların astma şiddetlerinin belirlenmesinde Vatrella'nın (103) önerdiğine benzer günlük gözlem formlarından yararlanıldı (EK-1). Hastalar ön izlem ve çalışma süresi boyunca istenen bilgileri kaydettiler ve kontrole geldiklerinde araştırmayı yapan hekime (İ.I.) teslim ettiler. Formlara semptomların şiddeti, günde kullanılan bronkodilatörün sayısı ve zirve akım hızı ölçümlerinin aşağıda belirtildiği şekilde işlenmesi istendi:

-Astma semptomları dört bölüme ayrılarak gündüz öksürüğü, hırıltı ve nefes darlığı, gündüz aktivitesi, gece semptomları ve balgam olarak izlendi. semptomların şiddetine göre 0'dan 3'e kadar dört derecede skorlanması istendi.

-Hastalardan her ihtiyaç duyduklarında iki püskürtme bronkodilatör kullanmaları öğütlendi. Her sefer için gözlem formuna o güne karşılık gelen sütuna bir çentik koymaları söylendi. Semptom ve ilaç skorları için bazal değer olarak -1. hafta boyunca, tedavi sonrası değer olarak da 6. hafta boyunca işaretlenen değerlerin toplanması şeklinde hesaplandı.

-Zirve akım hızı ölçümlerinin sabah ve akşam aynı saatte, arka arkaya yapılan üç ölçümden en iyisinin kaydedilmesi şeklinde yapılması önerildi. Ölçümlerin çalışma boyunca günün hep aynı saatlerinde, bronkodilatör kullanmadan önce yapılmasına özen gösterilmesi istendi. Ancak her hasta, günün hangi saatlerinde ölçüm yapacağını uyanma saati ile bağlantılı olacak şekilde kendi alışkanlığı doğrultusunda belirledi. Uygulamanın sabah kalktıktan yarım saat sonra ve buna göre akşam aynı saatte olacak şekilde yapılabileceği belirtildi. Tüm hastalar, aletlerin ölçümlerinden ileri

gelebilecek sapmalardan sakınmak amacı ile, aynı model zirve akım ölçerini (MultiSPIRO Inc., CA, ABD) kullandılar.

### **Metakolin inhalasyon testi**

Bronş hiperreaktivitesi ölçümleri, Cockcroft ve arkadaşları (31) tarafından tarif edilen ve Şekerel ve arkadaşları (104) tarafından modifiye edilerek uygulanan yöntem ile yapıldı. Testte bronkokonstrüktör olarak metakolin klorid (Mch) kullanılırken, bronş çapının göstergesi olarak da FEV-1'den yararlanıldı. Testin amacı FEV-1'de %20'lik azalmaya neden olan Mch konsantrasyonunu (PC20) bulmaya yönelikti. Mch inhalasyon testi özetle şu şekilde uygulandı:

Hastaların FEV-1 değerleri ölçüldükten sonra, önce serum fizyolojik ardından da her seferde bir önceki dozun iki katı konsantrasyonda olmak üzere metakolin solüsyonları inhale ettirildi. Her inhalasyon sonrasında hastaların FEV-1'leri ölçüldü. Herhangi bir Mch inhalasyonundan sonra ölçülen FEV-1 değeri, serum fizyolojik inhalasyonu sonrası ölçülen değerden %20 veya daha fazla düşük bulunduğu test sonlandırıldı. Mch inhalasyonuna 0.06 mg/ml konsantrasyonda başlandı ve inhale edilecek maksimum konsantrasyon 8 mg/ml olarak öngörüldü. Hastalar aerosollerini nebulizerin bir ucuna takılı ağızlık aracılığı ile bir dakikalık tidal solunumda inhale ettiler. Bu sırada nazal solunuma engel olmak için hastaların bir burun mandalı takıyor olmalarına dikkat edildi. Bir dakikalık inhalasyonu takip eden iki dakika içinde en az iki sefer (30. ve 90. saniyelerde) FEV-1 ölçümü yapıldı. Böylece bir inhalasyonun başlangıcından bir sonraki inhalasyonun başlangıcına kadar geçen sürenin 3 dakika olması sağlandı.

PC20'nin hesaplanması : FEV-1'de %20'lik bir düşüşe neden olan Mch

konsantrasyonunun hesaplanması (PC20) ise grafik üzerinde bilgisayar yardımı ile yapıldı. Ordinatın FEV-1'leri, absisin ise logaritmik düzende Mch konsantrasyonlarını gösterdiği grafik düzeneğinde son ölçülen iki FEV-1 değerini birleştiren doğrunun bazal FEV-1'in %80'ini kestiği noktadan okunan Mch konsantrasyonu (linear interpolasyon) bronş hiperreaktivitesinin ölçümü olarak kabul edildi.

Mch solüsyonunun hazırlanması : Serum fizyolojik ve toz halindeki Mch yardımı ile 32 mg / ml konsantrasyonda solüsyon hazırlandı. Solüsyon 22 mikron çaplı filtreden süzöldükten sonra 5'er ml olarak ışık geçirmeyen, steril küçük şişelere bölündü. Bu şişeler kullanılacakları güne kadar buzdolabında +4 °C'de (maksimum 3 ay) saklandılar. Bu stok solüsyon test günü, test saatinden yarım saat önce dilüe edildi. Dilüsyon işlemi için üzerlerinde 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.12, 0.06 mg / ml yazan şişelere 4'er ml serum fizyolojik kondu. Bu şişeler karışıklığa neden olmamak için yüksek konsantrasyondan küçüğe doğru bir spor üzerine dizildi. Stok solüsyondan alınan (32 mg / ml) 4 ml Mch solüsyonu üzerinde 16 mg / ml yazan şişeye kondu. Böylece 16 mg / ml konsantrasyonda 8 ml solüsyon elde edildi. buradan alınan 4 ml üzerinde 8 mg / ml yazılı şişeye kondu. Böylece 8 mg / ml konsantrasyonda 8 ml solüsyon elde edildi. İşlem bu şekilde 0.06 mg / ml solüsyon elde edilene kadar sürdürüldü. Tüm hazırlanan solüsyonlar o gün kullanılmadıkları takdirde imha edildi. Mch solüsyonunun aerosol haline dönüştürülmesi ise bir hava kompresörüne (Pulmo-Aid, DeVilbiss, CA, ABD) bağlı çalışan jet nebulizer (DeVilbiss 646, CA, ABD) ile sağlandı. Tüm testlerde aynı nebulizer kullanıldı. Her inhalasyon öncesi nebulizer içine uygun solüsyondan 4 ml kondu. Nebülizasyon işlemi sonrası kalan solüsyon döküldü ve yeni solüsyondan aynı miktar konarak bir sonraki

nebülizasyon işlemine geçildi. Süre ayarlamaları için bir kronometreden yararlanıldı. Total eozinofil sayımı: 1gr eozin ve 100 ml distile su ile stok solüsyonu hazırlandı. Bu stok solüsyonundan 5 ml alınıp, 80 ml distile su ve 5 ml aseton ile karıştırılarak eozinofil boyası hazırlandı. Beyaz küre pipetine 1 işaretine kadar kan, 11 işaretine kadar eozinofil boyası çekildi ve hafifçe çalkalandı. İki-üç dakika bekledikten sonra Neubauer lamında sayım yapıldı.

**Total Ig E :** ELİSA (enzyme linked immunosorbant assay) yöntemi kullanılarak kliniğimizde rutin olarak kullanılan metotla total Ig E tayini yapıldı (Dr. Fook Laboratorien GMBH GERMANY).

**Deri testleri :** Deri testleri, ön kolun ön yüzüne antijenlerin damlatılması ve Stallerpoint prik iğneleri ile (Stallerpoint, Laboratorie des Stallergenes, Fresnes Cedex, France) derinin 1mm delinmesi şeklinde yapıldı. Pozitif kontrol olarak histamin fosfat (1 mg / ml), negatif kontrol olarak da fosfatlı tampon solüsyonu (PBS) kullanıldı. Test sonuçları 15 dakika sonra eritem ve ödem plağının büyüklüğüne göre değerlendirildi. Ödem plağının negatif kontrolden 3 mm veya daha büyük, eritemin ise 5 mm veya daha büyük olması durumunda reaksiyonlar pozitif olarak kabul edildi (105).

**Serum ECP düzeyi:** Serum ECP düzeyi flouoroimmünoassay yöntemi ile tayin edildi (Pharmacia Ltd, Uppsala Sweden).

**ELİSA yöntemi ile sVCAM-1 'in saptanması:**

Serum sVCAM-1 düzeyi ELİSA yöntemi ile (R&D Systems Minneapolis USA) üretici firmanın önerilerine uygun olarak tesbit edildi.



*Testin esası:* Bu test kantitatif sandviç enzim immünoassay tekniği ile yapılmaktadır. Kuyucuklarda daha önceden yerleştirilmiş anti-sVCAM-1 monoklonal antikoları hazır olarak bulunmaktadır. Serum örneği bu kuyucuklara konulduğunda, örnekte bulunan sVCAM-1 bu antikolarla birleşir. Enzime bağlı poliklonal sVCAM-1 antikor ortama eklendiğinde, bunlar da sVCAM-1'e bağlanarak sandviç yapısını oluştururlar. Daha sonra enzim bağlı anti sVCAM-1'in ortamdan uzaklaştırılması için yıkama işlemi uygulanır. Ortama substrat solüsyonunun eklenmesi ile bir renk değişimi gözlenir. Daha sonra bu renk değişiminin yoğunluğu (absorbans) ölçülür.

### **Testin yapılışı**

#### ***Ayıraçların Hazırlanması***

*a-Yıkama tampionu konsantresi:* Yıkama tampionu konsantresi oda sıcaklığında ısıtıldıktan ve oluşan kristallerin çözünmesi için hafifçe çalkalandıktan sonra seyreltildi. Bunun için 20 ml yıkama tampionu konsantresi 480 ml distile su ile 500 ml'ye tamamlandı.

*b-Standartlar:* sVCAM-1 standartları kullanılmadan hemen önce 800 mikrolitre distile su ile hazırlandı. Oda sıcaklığında 10 dk. bekletildikten sonra içeriğinin tamamen çözünmesi için hafifçe çalkalandı. Köpüklenme olacak kadar şiddetli çalkalamamaya özen gösterildi.

*c-Kontrolün hazırlanması:* Kontrol solüsyonu 500 mikrolitre distile su ile kullanılmadan hemen önce hazırlandı. 10 dk. oda sıcaklığında bekletildikten sonra 50 kez seyreltildi. Bunun için 10 mikrolitre kontrol solüsyonuna 490 mikrolitre örnek seyreltici eklendi.

*d-sVCAM-1 konjugat konsantresi:* Konjugat konsantresi uygun bir pipet ile karıştırıldıktan sonra, 250 mikrolitre alınıp konjugat seyrelticiğine eklendi. Karışım köpürtülmeden yavaşça çalkalandı.

### *Örneğin hazırlanması*

Serum örnekleri örnek seyrelticisi ile 50 kez seyreltildi. Bunun için 10 mikrolitre seruma 490 mikrolitre seyreltici eklendi.

### *Testin Yapılışı*

Bütün ayraçlar ve örnekler testten hemen önce hazırlandı ve oda sıcaklığında bekletildi.

1-Bütün örnekler, ayraçlar, standartlar ve kontrol yukarıda açıklandığı şekilde hazırlandı.

2-Her kuyucuğa 100 mikrolitre seyreltik konjugat eklendi.

3-Her kuyucuğa 100 mikrolitre standart, kontrol veya serum örneği eklendi.

4-Palet kapatılarak 1.5 saat oda sıcaklığında enkübe edildi.

5-1.5 saat sonunda kuyucuklar boşaltıldı ve her kuyucuk 300 mikrolitre yıkama tamponu ile altı kez yıkandı. Yıkamalar arasında ve sonrasında kuyucukların içeriği aspire edildi.

6-Hemen arkasından her kuyucuğa 100 mikrolitre substrat eklendi. Yeniden kapatılarak oda sıcaklığında 20 dk. süreyle enkübe edildi.

7-Her kuyucuğa 200 mikrolitre stop solüsyonu substrat ile aynı sırada olacak şekilde eklendi.

8-Spektrofotometre ile optik dansiteleri 450 nm'de okundu.

### *Sonuçların Hesaplanması*

1-Her örnek için ortalama absorbans değerleri hesap edildi.

2-Absorbans değerleri ordinatta, sVCAM-1 değerleri absiste olacak şekilde grafik çizildi.

3-Absorbans değerinden standart eğriye bir dik uzatıldı. Kesişim noktasından absise dik olarak inildi ve sVCAM-1 değeri bulundu.

4-Burada bulunan değerler seyreltme katsayısı olan 50 ile çarpılarak ng/ml olarak serum sVCAM-1 değeri hesaplandı.

## İstatistiksel Analiz

Bütün istatistikler SPSS 6.0 program ile yapıldı. Hastaların tedavi öncesi ve tedavi sonrası değerlerini karşılaştırmak için Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi; hasta değerlerinin sağlıklı kontrollerle kıyaslanmasında Mann Whithney U Testi kullanıldı. Korelasyon analizleri Spearman Rank Testi ile yapıldı. P değeri 0.05'in altında ise anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Çalışmamıza HÜTF İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi Allerji ve Astma ünitesinde bronşial astma tanısı ile takip edilen 19 hasta dahil edildi. Hastaların 4'ü kız 15'i erkekti. Ortalama yaşları  $11.13 \pm 2.82$  yıl (6.5-16) idi. Kontrol grubu olarak da HÜTF İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi polikliniğine başvuran herhangi bir hastalığı olmayan 10 çocuk alındı. Kontrol grubu 5 kız ve 5 erkekten oluşuyordu. Yaş ortalamaları  $10 \pm 2.31$  yıl (6-13) idi. İki grubun yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ( $p > 0.05$ ).

Yapılan deri testleri sonucunda 18 hastada en az iki allerjene çoğunlukla ev tozu akarlarına pozitiflik (atopi) saptanırken, bir hastada ve kontrol grubunun hepsinde tüm deri testleri negatif bulundu. Hastalarımızın demografik özellikleri Tablo-3'te verilmiştir. Hasta ve kontrollerden elde edilen sonuçlar şöyleydi.

**1-Lökosit sayısı:** Hastalarımızın tedavi öncesi lökosit sayısı milimetreküpte  $8042 \pm 1621$ , tedavi sonrasında ise  $7726 \pm 2068$  olarak bulundu. Bu iki değer arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ( $p > 0.05$ ) (Tablo-3).

**2-Eozinofil sayısı:** Hastalarımızda tedavi öncesi eozinofil sayısı  $275 \pm 177$ , tedavi sonrasında ise  $205 \pm 76$  idi. Bu iki değer arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p = 0.023$ ) (Tablo-4). Kontrol grubunun eozinofil sayısı ise  $116 \pm 43$  idi. Bu sayı hem tedavi öncesi hem de tedavi sonrası hastaların eozinofil sayılarından daha düşük bulundu (sırasıyla  $p = 0.006$  ve  $p = 0.006$ ) (Tablo-5).

**3-FEV-1:** Hastalarımızın ortalama FEV-1 değeri (beklenen değer in yüzdesi olarak) tedavi öncesi  $90.7 \pm 16.4$ , tedavi sonrasında ise  $95.6 \pm 12.5$  olarak bulundu (Tablo-6).

Hasta no.	İsim	Yaş,cins	Atopi	Lökosit sayısı (t. öncesi/t. sonrası)
1	OÖ	13,E	+	7800/8300
2	FD	13,E	+	8300/7500
3	ŞÇ	6,5,E	+	9500/8800
4	YM	10,E	+	7700/6800
5	SN	14,K	+	8800/7000
6	TÜ	15,E	+	5500/6600
7	ÖG	12,K	+	7800/5900
8	İM	11,E	+	10900/9700
9	MÖ	11,E	+	11000/9700
10	AB	11,E	+	6600/5800
11	AK	13,E	+	5700/5500
12	YK	9,E	+	6300/10200
13	UG	8,E	+	7600/8500
14	AA	16,K	+	8600/6800
15	TÖ	7,K	+	7500/6800
16	SH	9,E	-	8700/5700
17	TM	14,E	+	5900/6000
18	AG	7,E	+	8000/7700
19	MAK	12,E	+	10000/13800

**Tablo-3:** Hastaların demografik özellikleri ve lökosit sayıları

Hastalarımızın tedavi öncesi ve tedavi sonrası FEV-1 ölçümleri arasındaki fark anlamlı değildi ( $p>0.05$ ).

Kontrol grubunda FEV-1  $104 \pm 17.5$  idi (Tablo-5). Bu değer tedavi öncesi hasta değerinden daha yüksek bulunurken ( $p=0.01$ ), tedavi sonrası hasta değeri ile anlamlı bir farklılığı yoktu ( $p>0.05$ ).

**4-PC20 ölçümü:** Hasta grubunun tedavi öncesi PC20 değeri  $2.55 \pm 3.85$  mg/ml, tedavi sonrası ise  $4.34 \pm 5.64$  mg/ml idi. Bu iki değer arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p=0.012$ ) (Şekil-1). Kontrol grubunda PC20 değeri  $13.87 \pm 4.61$  mg/ml olarak bulundu. Bu değer tedavi öncesi ve tedavi sonrası hasta değerlerinden belirgin olarak yüksek bulundu (sırasıyla  $p=0.0001$  ve  $p=0.0007$ ). Hastalarımızın tedavi öncesi ve

Hasta no.	Eozinofil sayısı	Total IgE (IU/L)	ECP (ug/l)	sVCAM-1 (ng/ml)
1	250/175	228/203	41.8/<2.0	638/557
2	100/120	397/264	13.4/9.83	726/689
3	350/150	172/153	20.3/31.7	647/650
4	225/200	703/472	55.51/20.1	690/715
5	300/450	257/289	44.31/13.8	735/719
6	200/375	1860/1525	43.7/29.0	717/666
7	250/225	219/132	50.8/15.8	698/641
8	225/175	279/267	79/23	664/670
9	100/125	289/269	42.17/9.96	597/597
10	825/300	336/377	51.4/23.5	604/664
11	175/125	275/171	30.2/3.23	662/560
12	425/300	173/95	40/23.6	609/638
13	300/225	166/155	22.6/6.23	697/629
14	175/125	231/221	25.46/15.2	698/719
15	200/150	217/141	31.2/2.48	638/641
16	150/275	231/185	46.45/21.6	583/642
17	600/325	235/118	26.12/13.5	726/623
18	150/175	419/448	63.2/43.0	718/676
19	225/200	229/237	66.24/39.9	699/644

Tablo-4: Hastaların eozinofil sayısı, total IgE, ECP ve sVCAM-1 düzeylerinin tedavi ile değişimi

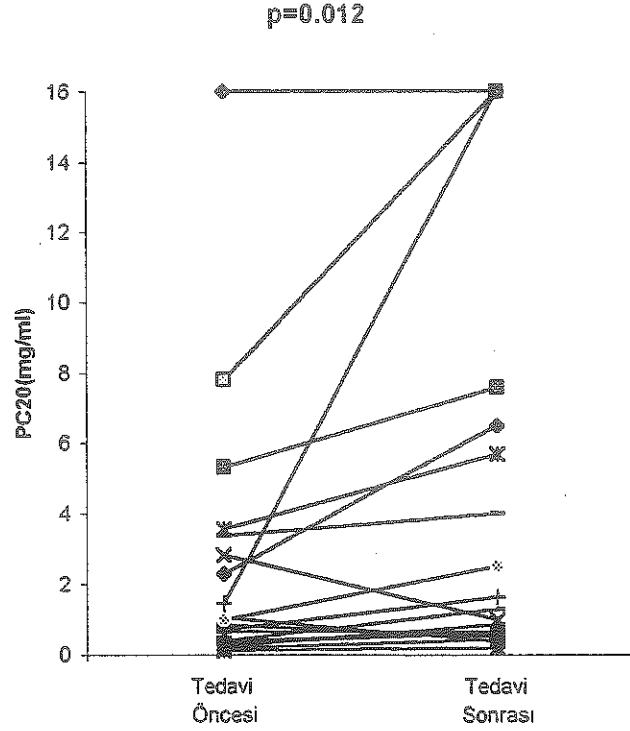
İsim	Yaş, cins	Eozinofil sayısı	Total IgE (IU/L)	ECP (ug/l)	sVCAM-1 (ng/ml)	PC20 (mg/ml)	FEV-1
DK	8,E	56	95	6.5	575	16	110
AS	11,E	84	29.3	16.3	616	16	97
BÇ	10,K	86	25.5	14.8	596	16	105
CG	9,E	120	7.84	22.0	622	3.25	94
BŞ	10,E	120	20.11	6.3	490	16	120
YŞ	13,K	200	128	17.0	504	16	95
ÖŞ	13,K	175	68.9	14.9	614	16	102
MA	8,K	84	10.7	22.7	579	16	100
BA	12,K	116	18.9	10.4	629	7.4	108
OB	6,E	120	11.4	6.5	535	16	98

Tablo-5: Kontrol grubunun demografik özellikleri ve serum değerleri

Hasta no.	FEV-1 (% beklenen)	PC20 (mg/ml)	sPEF	aPEF	Semptom skoru	İlaç skoru
1	89/91	2.3/6.5	310/350	330/360	7/3	7/0
2	86/85	5.3/8.0	350/375	370/380	3/0	10/0
3	106/97	1.05/0.37	200/250	210/260	4/1	11/0
4	93/90	2.83/1.0	220/240	230/250	10/13	17/7
5	68/80	3.57/5.68	500/680	520/700	11/0	20/0
6	106/106	0.84/0.5	515/550	535/570	14/1	14/1
7	78/93	0.71/1.63	300/350	340/359	7/0	15/0
8	71/103	0.24/0.86	250/350	300/400	10/0	10/0
9	82/83	3.37/4.0	245/250	245/250	10/0	10/3
10	83/85	0.39/0.6	220/235	250/255	14/0	10/0
11	75/74	8.0/16.0	270/310	300/340	14/0	14/0
12	82/96	0.19/0.44	200/250	250/270	13/8	18/0
13	111/111	0.31/0.61	240/300	250/320	21/7	16/0
14	86/119	0.12/0.21	390/420	410/440	13/9	11/1
15	99/92	1.0/2.52	300/300	300/300	1/0	20/0
16	94/97	1.46/16	270/300	280/300	7/3	19/0
17	101/104	0.4/1.3	500/530	550/540	12/0	18/0
18	136/121	0.65/0.68	200/210	210/230	10/0	13/0
19	78/91	16/16	470/480	490/500	6/0	10/0

Tablo-6: Hastaların solunum fonksiyonları, BHR, semptom ve ilaç skorlarının tedavi ile değişimi.



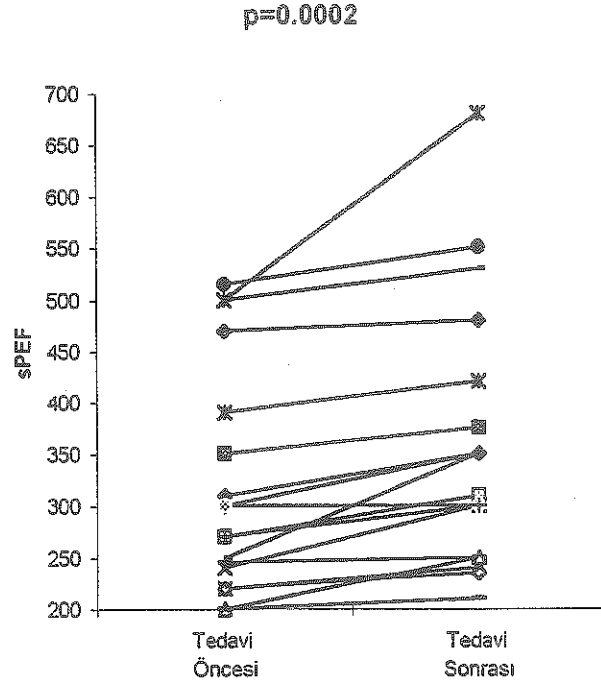


Şekil-1: Tedavi öncesi ve tedavi sonrası PC20'deki değişiklik. Tedavi

öncesi PC20 değeri ortalama  $2.55 \pm 3.85$  mg/ml, tedavi sonrası  $4.34 \pm 5.64$  mg/ml.

sonrası PC20, FEV-1 ve PEF değerleri ile semptom ve ilaç skorları Tablo-6'da gösterilmiştir.

**5-PEF ölçümleri:** Hastalarımızın tedavi öncesi sabah PEF (sPEF) değerlerinin ortalaması  $313 \pm 109$ , tedavi sonrasında ise  $354 \pm 126$  idi bu iki değer arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p=0.0002$ ) (Şekil-2). Akşam PEF (aPEF) değerleri ise sırasıyla  $335 \pm 113$  ve  $369 \pm 128$  idi. Hastalarımızın aPEF değerleri arasındaki fark da anlamlı idi ( $p=0.0004$ ) (Şekil-3).

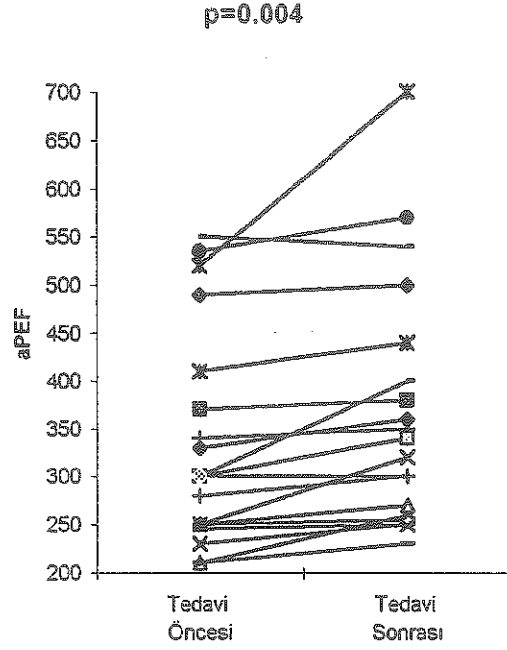


Şekil-2: Hastaların sPEF değerlerinin tedavi ile değişimi. Tedavi öncesi ortalama sPEF değeri  $313 \pm 109$ , tedavi sonrası  $354 \pm 126$ .

6-Semptom skoru: Hastalarımızın semptom skoru tedavi öncesi ve sonrası anlamlı olarak farklı idi ( $p=0.0001$ ) (Şekil-4). Bunlar sırasıyla  $9.0 \pm 5.06$  ve  $1.84 \pm 2.97$  olarak bulundu.

7-İlaç skoru: Hastalarımızın ilaç skorları tedavi sonrasında tedavi öncesine göre anlamlı olarak düşük bulundu ( $p=0.0001$ ). Bunlar sırasıyla  $14.32 \pm 3.87$  ve  $0.63 \pm 1.72$  idi (Tablo-6).

8-Total IgE: Hastalarımızın tedavi öncesi total IgE düzeyi ortalaması  $364 \pm 382.53$



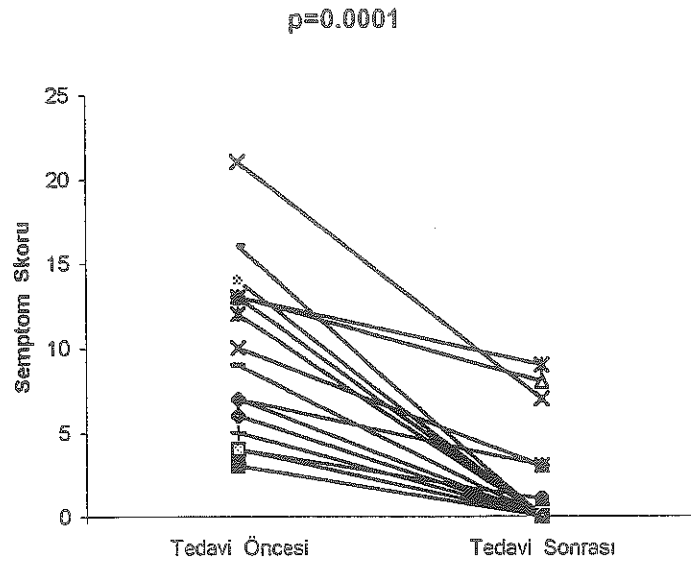
Şekil-3:Hastaların aPEF değerinin tedavi ile değişimi. Tedavi öncesi aPEF

değeri ortalaması  $335 \pm 113$ , tedavi sonrası  $369 \pm 128$ .

IU/L iken bu değer tedavi sonrasında  $304.63 \pm 312.82$  IU/L olarak bulundu. Tedavi sonrasındaki bu düşüş anlamlı bulundu ( $p=0.007$ ) (Tablo-4).

Kontrol grubunun total IgE düzeyi ortalaması  $41.50 \pm 41.36$  IU/L olarak bulundu (Tablo-5). Bu değer tedavi öncesi ve tedavi sonrası hasta değerlerinden anlamlı olarak düşüktü ( $p=0.0001$  ve  $p=0.0002$ ).

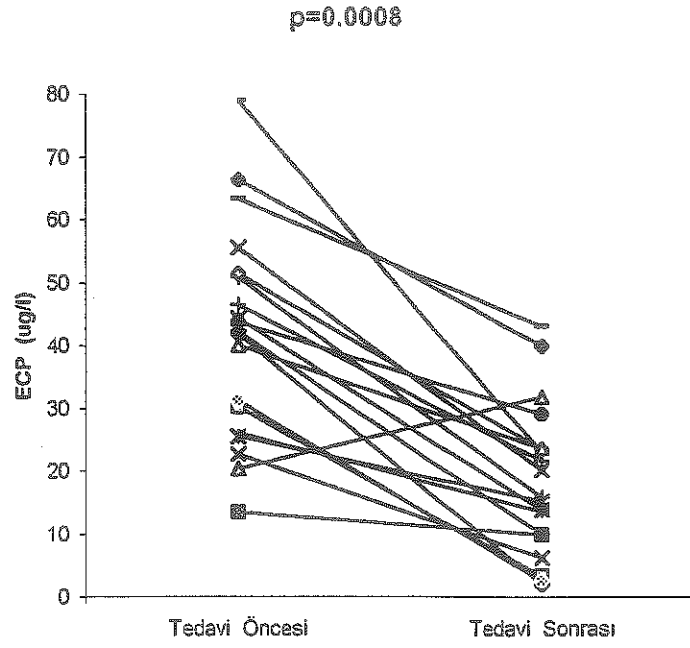
9-Serum ECP düzeyi: Hastalarımızın serum ECP düzeyi tedavi öncesi  $40.63 \pm 18.29$  ug/l iken tedavi sonrası  $18.28 \pm 11.91$  ug/l olarak bulundu. Bu iki değer arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p=0.0008$ ) (Şekil-5).



**Şekil-4:** Hastaların tedavi öncesi ve sonrasında semptom skorları. Tedavi öncesi semptom skoru ortalaması  $9.0 \pm 5.06$ , tedavi sonrası  $1.84 \pm 2.97$ .

Kontrol grubunun ECP değeri  $13.74 \pm 6.14$  ug/l idi. Bu değer hastalarımızın tedavi öncesi değerinden anlamlı olarak düşük bulunurken ( $p=0.0001$ ), tedavi sonrası değeri ile anlamlı bir farklılık bulunamadı ( $p>0.05$ ).

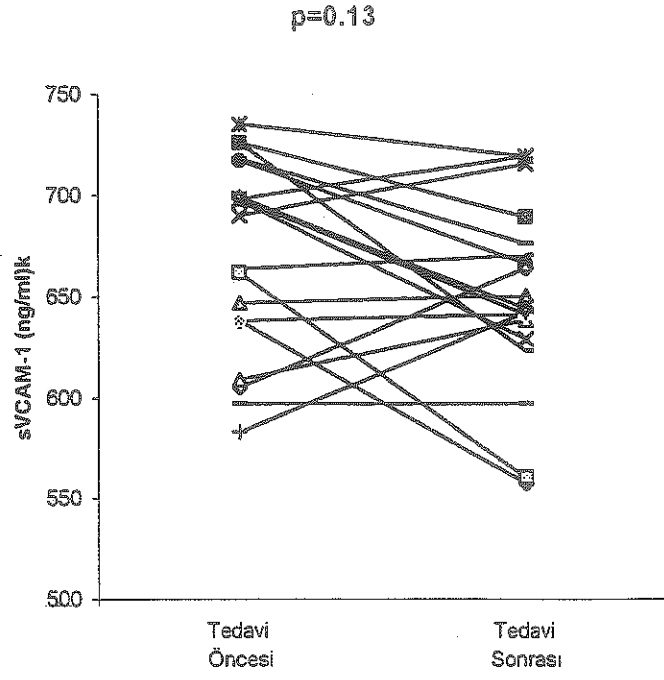
**10-Serum sVCAM-1 düzeyi:** Hastalarımızın tedavi öncesi ve tedavi sonrası serum sVCAM-1 değerleri sırasıyla  $670.88 \pm 48.34$  ng/ml ve  $649.47 \pm 45.9$  ng/ml olarak bulundu. Bu değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamadı ( $p>0.05$ ) (Şekil-6). Kontrol grubunun serum sVCAM-1 düzeyi ( $576.10 \pm 50.00$  ng/ml) hasta grubunun tedavi öncesi ve tedavi sonrası değerinden anlamlı olarak düşük bulundu ( $p=0.0003$  ve  $p=0.0012$ ).



Şekil-5: Hastaların serum ECP düzeyinin tedavi ile değişimi. Tedavi

öncesi ortalama serum ECP düzeyi,  $40.63 \pm 18.29$  ug/l, tedavi sonrası  $18.28 \pm 11.91$  ug/l.

**Korelasyon analizleri:** Yaptığımız çalışmada ECP ile PC20 arasında negatif korelasyon olduğu gözlemlendi ( $r=-0.61$ ,  $p=0.012$ ). sVCAM-1 ile çalıştığımız diğer parametreler arasında korelasyon olmadığı görüldü ( $p>0.05$ ).



Şekil-6: Serum sVCAM-1 düzeyinin tedavi öncesi ve sonrasındaki dağılımı.

Tedavi öncesi ortalama değeri  $670.88 \pm 48.34$  ng/ml, tedavi sonrası  $649.47 \pm 45.9$  ng/ml.

## TARTIŞMA

Bronşial astma çocukluk çağındaki kronik hastalıkların başında gelmektedir (1). Patolojisinin aydınlatılmasına yönelik çok sayıda çalışmalar yapılmasına rağmen henüz patolojisi tam olarak aydınlatılmış değildir. Hastalığın etiyolojisinde genetik ve çevresel faktörlerin etkileşiminin rol oynadığı düşünülmektedir (9, 11-14). Bronşial astmanın kronik enflamatuvar bir hastalık olduğu uzun bir süreden beri bilinmektedir. Hava yolu enflamasyonunda eozinofiller, lenfositler, mast hücreleri ve makrofajlar rol almaktadır (4). Bronşial astmanın kronik enflamatuvar bir hastalık olduğu anlaşıldıktan sonra anti-enflamatuvar tedavi gündeme gelmiştir. Bugün güçlü anti-enflamatuvar etkiye sahip olan glukokortikoidler gerek yetişkin gerekse çocukluk çağı astma tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (3). Sistemik yan etkilerinin az olması nedeniyle topikal kullanıma elverişli inhale glukokortikoidler orta ve ağır şiddetteki persistan astma tedavisinde ilk seçenek olarak düşünülmektedir (1).

Yapılan çalışmalarda inhale glukokortikoid tedavisinin bronşial astmada, klinik bulguları ve patolojik bulguları düzelttiği tesbit edilmiştir (3, 42, 49, 50, 91-102, 106-108). Ayrıca inhale glukokortikoidlerin astmada güvenilir ilaçlar olduğu gösterilmiştir (106). Bizim yaptığımız çalışmada da bronşial astma tanısı ile izlenen 19 hastaya 6 hafta süreyle bir inhale steroid olan budesonid verildi. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası klinik bulgular, BHR ve kronik inflamasyonun göstergesi olabilecek total eozinofil sayısı, serum ECP düzeyi, total IgE düzeyi ve sVCAM-1 düzeyi değerlendirildi. İn hale steroid tedavisinin belirgin bir klinik düzelmeye sağladığı gösterildi. Klinik değerlendirme için semptom skoru ve ilaç skoru dikkate alındı. Semptom skorunda tedavi sonrası belirgin bir düşüş saptandı. Tedavi öncesi semptom skoru  $9.0 \pm 5.06$  iken, tedavi sonrasında  $1.84 \pm 2.97$

olarak bulundu (Şekil-4). Benzer sonuçlar ilaç skoru açısından da elde edildi. Tedavi öncesi ilaç skoru  $14.32 \pm 3.87$  iken tedavi sonrasında  $0.63 \pm 1.71$  olarak bulundu ( $p=0.0001$ ). İnhaler budesonid tedavisi sonrası hastalarımızın bronkodilatör ihtiyacının büyük ölçüde azalma gösterdiği gözlemlendi.

Tedavi sonrasında hastalarımızın sPEF ve aPEF değerlerinde önemli düzelme olduğu görüldü (Şekil-3 ve 4). sPEF tedavi öncesinde  $313 \pm 109$ , aPEF  $335 \pm 113$  iken tedavi sonrasında bu değerler sırasıyla  $354 \pm 126$  ve  $369 \pm 128$  olarak bulundu (sırasıyla  $p=0.0002$  ve  $p=0.004$ ). Bu bulgu literatürle uyumlu idi (101, 103, 108-110).

İnhaler steroid tedavisi öncesi hastaların FEV-1 değeri  $90.7 \pm 16.4$  iken tedavi sonrasında  $95.6 \pm 12.5$  olarak bulundu. Hastaların tedavi sonrası FEV-1 değerlerinde yükselme tesbit edilmesine rağmen bu yükselme istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0.05$ ). Daha önce yapılan çalışmalarda steroid tedavisi sonrası FEV-1 değerinde yükselme olduğu gösterilmiştir (49, 101, 102, 110, 111, 112). Bununla birlikte Backman ve arkadaşları (50) tarafından yapılan bir çalışmada 5 ay süreyle inhaler steroid verdikleri 10 astmalı çocuğun (ilk ay  $800 \text{ mikrogram/m}^2/\text{gün}$  dahasonra  $400 \text{ mikrogram/m}^2/\text{gün}$ ) FEV-1 değerinde artış olmadığı gözlemlenmiştir. 5 aylık tedavi sonrasında FEV-1 değerinde bir miktar artış tesbit edilmiş ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Bizim yaptığımız çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Aynı şekilde Vetrella ve arkadaşları (103) tarafından yapılan bir başka çalışmada da mevsimsel astması olan 20 hastaya plasebo kontrollü olarak 5 ay süreyle beklametazon dipropianat ( $500 \text{ mikrogram/gün}$ ) verilmiş ve çalışma süresince hastaların FEV-1 değerinde beklametazon dipropianat grubunda da plasebo grubunda da istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik tesbit edilememiştir. Bizim çalışmada da budesonid tedavisi ile hastaların



FEV-1 değerinde bir miktar yükselme tesbit edilmesine rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı.

Nimmagadda ve arkadaşları (107) tarafından yapılan bir başka çalışmada da hastalara, iki gruba ayrılarak 1000 mikrogram/gün ve 2000 mikrogram/gün dozlarında inhale flutikazon propianat verilmiş, 4 haftalık tedavi süresi sonunda ikinci grupta FEV-1 değerinde anlamlı bir yükselme tesbit edilirken, birinci grupta bu farklılık gözlenmemiştir. Buna göre yüksek dozlarda verilen inhale steroidin FEV-1 değerini yükselttiğini söyleyebiliriz. Biz de hastalarımıza oldukça yüksek dozda steroid uygulamamıza rağmen FEV-1 değerinde yükselme olmamasını hastalarımızın ataklar dışında FEV-1 değerlerinin oldukça yüksek, hafif ve orta şiddetli astmalı hastalardan oluşması ile açıklayabiliriz.

BHR astmanın komponentlerinden biridir(1). Bronşial astmalı hastalarda BHR varlığı uzun bir süreden beri bilinmektedir (9, 20, 23, 33). BHR ölçümü için bronkoprovakasyon testlerinden yararlanılmaktadır. Bu amaçla en sık kullanılan metakolin ve histamin inhalasyon testleridir (21, 26).İnhalasyon testinde hastanın bazal FEV-1 değerinde %20 düşüşe neden olan ilaç konsantrasyonu (PC20) bulunmaya çalışılır. Bu değerin astma hastalarında normal popülasyona oranla daha düşük olduğu bilinmektedir. Astma şiddetinde artma ile birlikte PC20 değerinin daha da düştüğünü bildiren çalışmalar mevcuttur (21, 33). Anti-enflamatuvar tedavi ile BHR'nin astma hastalarında azaldığı gösterilmiştir (3, 101, 103, 106, 112,113). Bizim çalışmamızda da hastalarımızın tedavi öncesi ve tedavi sonrası PC20 değerinin kontrol grubundan belirgin olarak düşük olduğu (sırasıyla  $p=0.0001$  ve  $p=0.0007$ ) ve inhale steroid tedavisi ile hastalarımızın PC20 değerinde anlamlı bir yükselme olduğu görüldü ( $p=0.012$ ). Bu bulgumuz literatürle uyumlu idi (102, 103, 106, 113). Bu çalışmamız toz formunda verilen inhale budesonidin astmanın

temel özelliklerinden bir tanesi olan bronş hiperreaktivitesini azalttığını göstermiştir.

Çalışmamızda tedavi ile total IgE düzeyinde düşüş olduğu gözlemlendi ( $p=0.007$ ). Daha önce budesonid inhaler ile yapılan bir çalışmada total IgE düzeyinin tedavi ile bir miktar düştüğü ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gösterilmiştir (110). Bizim çalışmamızda serum IgE düzeyindeki düşüşün anlamlı olması kullandığımız steroid dozunun yüksek oluşuna bağlandı.

Eozinofiller bronşial astma patogenezinde rol oynayan en önemli efektör hücrelerdir (41, 111, 114). Bronşial astma hastalarının kan, BAL sıvıları, balgam ve bronşial dokularında artmış sayıda eozinofil bulunmaktadır (39-41). Hastalarımızın tedavi öncesi ve tedavi sonrası eozinofil sayısı kontrol grubundan belirgin olarak yüksek bulundu ( $p=0.0006$ ,  $p=0.0006$ ). Semptomatik ve asemptomatik astma hastalarının normal popülasyona göre daha yüksek eozinofil sayısına sahip oldukları bilinmektedir (4, 5, 33, 38-41, 43, 47, 49). Yaptığımız çalışmada ayrıca steroid tedavisi ile eozinofil sayısında anlamlı bir düşüş ( $p=0.023$ ) olduğu gözlemlendi. Griffin ve arkadaşları (40) tarafından erişkin hastalarda yapılan bir çalışmada bizim elde ettiğimiz sonuçlara benzer sonuçlar bildirilmiştir. O çalışmada da inhale steroid tedavisi sonrası kan eozinofil sayısında düşüş olduğu gösterilmiştir.

ECP eozinofillerden salınan ve bronşial astmada bronş harabiyetinden büyük ölçüde sorumlu tutulan granül proteinlerden biridir (41). Aktive olmuş eozinofillerden salınmakta olan ECP'nin balgam, serum veya BAL sıvısındaki miktarını ölçmek mümkündür (111). Serum ECP ölçümü kolay oluşu ve invazif olmayışı nedeniyle tercih edilen yöntemdir. Serum ECP düzeyi ile hastalığın şiddeti arasında korelasyon olduğunu göstermek amacıyla çok sayıda çalışma yapılmıştır. Serum ECP düzeyinin takibi ile kolayca ve

objektif olarak hastalığın durumu hakkında fikir edinilmesi ve tedavinin yönlendirilmesi planlanmıştır (46, 49, 103, 110, 111, 114).

Hastalığın şiddetinin arttığı dönemlerde serum ECP düzeyinin arttığını ve tedavi ile bunun eski durumuna döndüğünü gösteren çalışmalar mevcuttur. Montan ve arkadaşları (49) tarafından 15 allerjik konjuktivitli hastada yapılan çalışmada konjunktival allerjen provokasyonu sonunda göz yaşında ECP miktarının arttığı gösterilmiştir. Benzer bir çalışma da Van Bever ve arkadaşları (115) tarafından bronşial astmalı 18 çocukta yapılmış ve allerjen provokasyonu sonrası serum ECP düzeyinde anlamlı bir artış olduğu gösterilmiştir. Durham ve arkadaşlarının (46) yaptıkları çalışmada da benzer sonuçlar elde edilmiştir. Fujisawa ve arkadaşları (114) 28 astmalı çocukta yaptıkları çalışmada hastaların bazal ECP değerlerini tesbit ettikten sonra takip etmişler ve semptomların arttığı dönemde alınan kan örneklerinde ECP düzeyinin bazal döneme göre daha yüksek olduğunu göstermişlerdir.

Bronşial astma hastalarında ECP değerinin tedavi ile azaldığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. Vatrella ve arkadaşları (103) tarafından yapılan çalışma bunlardan biridir. Mevsimsel astması olan 20 erişkin hastada yapılan bu çalışmada, polen mevsimi boyunca hastalar iki gruba ayrılarak bir gruba inhale steroid (Beklametazon dipropianat) diğer gruba plasebo verilmiş. Hastaların serum ECP düzeylerini takip ettiklerinde, plasebo grubunda polen mevsiminde belirgin bir yükselme tesbit edilirken inhale steroid alan grupta bu yükselme tesbit edilememiştir.

Türktaş ve arkadaşları (110) tarafından çocuk hastalarda yapılan çalışmada inhale steroid (budesonid) tedavisi ile (üç ay süreyle verilmiş) hastaların ECP düzeylerinin düştüğü gösterilmiştir. Benzer şekilde Adelroth ve arkadaşları (116) tarafından yapılan

çalışmada da inhale budesonid tedavisi sonrasında serumda ve BAL sıvısında ECP düzeyinin azaldığı bildirilmiştir.

Yaptığımız çalışmada hastalarımızın ECP değeri kontrol grubundan daha yüksek bulundu. Hastalarımızın tedavi öncesi ECP düzeyi  $40.63 \pm 18.29$  ug/l, kontrol grubunun ECP düzeyi ise  $13.74 \pm 6.14$  ug/l ( $p=0.0001$ ) olarak tesbit edildi. İnhal steroid tedavisi sonrası bu değer  $18.28 \pm 11.91$  ug/l'e düştüğü görüldü ( $p=0.0008$ ). Bu bulgumuz literatür ile uyumlu idi (40, 50, 103, 110, 116). Çalışmamızda kuru toz inhaler budesonid tedavisi sonrasında klinik düzelme ile birlikte ECP'nin serum konsantrasyonunda azalma olduğu görüldü. Serum ECP düzeyi takibi ile objektif olarak hastalığın durumu ve inflamasyonun takibinin yapılabileceği düşünüldü.

Diğer taraftan Nimmagadda ve arkadaşlarının (107) yaptığı çalışmada, 4 hafta süreyle flutikazon propianat verilen hastalarda istatistiksel olarak anlamlı olmasa da serum ECP düzeyinde bir miktar düşüş olduğu bildirilmiştir. Elde ettikleri düşüşün istatistiksel olarak anlamlı olmamasını hasta sayısının az olmasına bağlamışlardır. Daha önce yapılan çalışmalarda hastaların semptomatik oldukları dönemde tedavi sonrası düşüşün daha belirgin olduğu (49), yine başlangıç ECP düzeyi ne kadar yüksek ise tedavi sonrası düşüşün de o kadar fazla olduğu bildirilmiştir (50).

Yaptığımız çalışmada serum ECP düzeyi ile PC20 arasında negatif bir korelasyon olduğu görüldü ( $r=-0.61$  ve  $p=0.012$ ). Varella ve arkadaşlarının (103) yaptıkları çalışmada da ECP ile PC20 arasında benzer bir korelasyon olduğu bildirilmiştir. Bu da sadece serum ECP düzeyinin bile astmadaki inflamasyonun iyi bir göstergesi olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda serum ECP düzeyi ile çalıştığımız diğer parametreler arasında (PEF,

FEV-1, total IgE) bir korelasyon gösterilemedi. Literatürde benzer sonuçların bildirildiği çalışmalar yer almaktadır (40, 49, 50, 111-114).

Adezyon molekülleri son yıllarda üzerinde yoğun olarak çalışılan konulardan biridir. Lökositlerin migrasyonu ve enflamasyonlu dokuda efektör fonksiyonlarını yerine getirmeleri adezyon ilişkili olaylar sonucunda oluşmaktadır. VCAM-1 adezyon moleküllerinin immünglobülin süperailisinin bir üyesidir. Endotel yüzeyindeki ekspresyonları bazı uyanılara (IL-1, IL-4, TNF-alfa) bağlıdır (66, 117, 118). VCAM-1 düzeyi IL-13 tarafından da spesifik olarak artırılmaktadır (83). VCAM-1'in reseptörü olan VLA-4 bazofillerde, lenfositlerde ve eozinofillerde bulunmaktadır (117). Bu da VCAM-1'in allerjik inflamasyondaki önemini göstermektedir. Bronşial astmalılarda yapılan çalışmalarda VCAM-1'in sadece bronş endotelinde bulunduğu, epitelde bulunmadığı gösterilmiştir (66, 118). Uyarılmış endotel yüzeyinde eksprese edilen VCAM-1 molekülünün bir kısmı solubl VCAM-1 şeklinde dolaşıma verilmektedir. Dolaşımdaki sVCAM-1 düzeyi konusunda çok az bilgi vardır. Serum sVCAM-1 düzeyinin kanser hastalarında ve inflamatuvar hastalığı olanlarda, örneğin romatoid artritli hastalarda arttığı bildirilmiştir (84, 85).

Yaptığımız çalışmada serum sVCAM-1 düzeyinin tedavi öncesi ve tedavi sonrasında kontrol grubundan belirgin olarak daha yüksek olduğu gösterildi ( $p=0.0003$  ve  $p=0.0012$ ). Tedavi sonrası hastalarımızın serum sVCAM-1 düzeyi bir miktar düşmesine rağmen (sırasıyla  $670.88 \pm 48.34$  ng/ml ve  $649 \pm 45.9$  ng/ml) bu düşüşün istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü ( $p>0.05$ ). Çalışmamız kronik inflamatuvar bir hastalık olan bronşial astmada serum sVCAM-1 düzeyinin artmış olduğunu fakat tedavi sonrası klinik düzelme ile uyumlu olarak düzeylerinin azalmadığını göstermiştir. Bu durumun bizim çalışmamıza dahil edilen hasta grubunu oldukça stabil hafif-orta astmalı hastaların oluşturmasından

kaynaklanıyor olabileceği düşünöldü.

Literatürde bronşial astma ve VCAM-1 ilişkisini araştıran az sayıda araştırma bulunmaktadır ve bunlarda farklı sonuçlar elde edilmiştir.

Uyarılmış endotel yüzeyinde VCAM-1 ekspresyonunun arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (66, 117). Diğer taraftan Bentley ve arkadaşları (118), intrinsik astma, ekstrinsik astma ve kontrol grubunun bronş biopsilerinde VCAM-1 düzeyinin farklılık göstermediğini belirtmişlerdir. Aynı çalışmada allerjen provakasyonundan sonra alınan bronş biopsilerinde de VCAM-1 düzeyinde artış olmadığı gösterilmiştir. Buna karşın allerjen provakasyonu sonrasında endotel yüzeyindeki VCAM-1 ekspresyonu ile eozinofil sayısı arasında korelasyon olduğu bulunmuştur. Bizim çalışmamızda eozinofil sayısı ve sVCAM-1 arasında böyle bir korelasyon gösterilemedi.

Monteforte ve arkadaşlarının (7) yaptığı bir başka çalışmada da, stabil astma, akut astma atağı, steroid tedavisi sonrası ve kontrol grubunda serum sVCAM-1 düzeyi çalışılmış ve gruplar arasında bir farklılık tesbit edilememiştir. Ayrıca serum sVCAM-1 düzeyi ile PEF veya PC20 arasında bir korelasyon olmadığı gösterilmiştir. Yaptığımız çalışmada benzer olarak sVCAM-1 düzeyi ile diğer parametreler arasında herhangi bir korelasyon olmadığı göröldü.

Elde ettiğimiz bulgular ışığında serum sVCAM-1 düzeyinin astmada artmış olmasına rağmen, inflamasyonun ve astma tedavisinin değerlendirilmesinde güvenilir bir gösterge olmadığı söylenebilir.

Bu çalışmada elde ettiğimiz bir diğer sonuç da budesonidin yeni kullanıma sunulan kuru toz inhaler formunun çocukluk çağı bronşial astma tedavisinde etkili bir ilaç olduğudur. Daha önce yapılan çalışmalarda inhale glukokortikoidlerin bronşial astma tedavisinde

etkili ilaçlar oldukları gösterilmiştir (3, 42, 49, 50, 91-102, 106-108). Şekerel ve arkadaşları tarafından plasebo kontrollü olarak budesonid inhaler ile yapılan çalışmada 8 haftalık tedavi dönemi sonunda PC20, FEV-1 ve PEF'de yükselme semptom skoru ve bronkodilatör ihtiyacında azalma olduğu gösterilmiştir. Budesonidin ölçülü doz inhaler (MDI) formu ile elde edilen bu sonuçlar, bizim yaptığımız çalışmada budesonidin kuru toz inhaler formu ile de elde edilmiştir.

1998 yılında yayınlanan flutikazon propianatın kuru toz inhaler formu ile yapılan bir çalışmada bu ilacın çocukluk çağı bronşial astma hastalığında solunum fonksiyonlarında, bronkodilatör ihtiyacında ve semptom skorunda düzelme sağladığı ve çocukluk çağı bronşial astma hastalığında güvenle kullanılabileceği belirtilmiştir (119).

Bizim yaptığımız çalışmada da budesonidin kuru toz inhaler formunun çocukluk çağı bronşial astmasında klinik bulguları düzelttiği, bronkodilatör ihtiyacını azalttığı, inflamasyon bulgularını baskıladığı gözlemlendi. Sonuç olarak budesonidin kuru toz inhaler formunun erişkinlerde olduğu gibi çocukluk çağı bronşial astma tedavisinde de kullanılabilecek etkili bir ilaç olduğu söylenebilir.

## SONUÇLAR

Bu çalışmada hafif-orta şiddette astması olan 19 hastaya 6 hafta süreyle bir inhale glukokortikoid olan budesonidin kuru toz inhaler formu (Pulmicorte Turbuhaler<sup>R</sup>) 1200 mikrogram/gün iki dozda verilerek tedavi öncesi ve tedavi sonrasında hastalığın klinik değişimi ve bazı inflamasyon göstergeleri karşılaştırıldı. Ayrıca tedavi öncesi ve sonrasında elde edilen değerler yaşları uygun 10 sağlıklı çocuğun değerleri ile karşılaştırıldı. Sonuçlar şöyledir:

- 1-Hastaların tedavi öncesi ve sonrası lökosit sayıları arasında anlamlı bir fark yoktu.
- 2-Tedavi sonrasında hastalarımızın eozinofil sayılarında anlamlı bir düşüş gözlemlendi. Aynı zamanda hastalarımızın tedavi öncesi ve sonrasında eozinofil sayıları kontrol grubundan anlamlı olarak yüksek bulundu.
- 3-Hastalarımızın FEV-1 değerinde tedavi ile bir miktar yükselme tesbit edildi ancak bu yükselme anlamlı değildi. Hastalarımızın tedavi öncesi FEV-1 değeri kontrol grubundan anlamlı olarak daha düşüktü.
- 4-Tedavi sonrasında hastalarımızın bronş hiperreaktivitesinde anlamlı bir iyileşme olduğu gözlemlendi. Ancak tedavi sonrası BHR değeri hala kontrol grubundan daha düşüktü.
- 5-Hastalarımızın sabah ve akşam PEF değerlerinde tedavi ile anlamlı bir yükselme tesbit edildi.
- 6-Tedavi sonrasında hastalarımızın semptom skorlarında düşme gözlemlendi.
- 7-Tedavi ile hastalarımızın bronkodilatör ihtiyacında belirgin azalma oldu.
- 8-Hastalarımızın total IgE değeri tedavi öncesi ve sonrasında kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksek bulundu. Tedavi sonrası hastalarımızın IgE değerinde düşme gözlemlendi.



9-Tedavi sonrasında hastalarımızın serum ECP değerinde anlamlı bir düşüş tebit edildi. Tedavi öncesi serum ECP düzeyinin kontrol grubundan belirgin olarak yüksek bulunurken tedavi sonrasındaki hasta değerleri ile kontrol grubu arasında belirgin farklılık olmadığı gözlemlendi.

10-Serum ECP düzeyi ile PC20 arasında negatif bir korelasyon olduğu görüldü. Bu sonuçlar serum ECP düzeyinin astmadaki inflamasyonun iyi bir göstergesi olabileceğini düşündürdü.

11-Hastalarımızın tedavi öncesi ve sonrası serum sVCAM-1 düzeyleri kontrol grubundan daha yüksek bulundu. Ancak tedavi ile serum sVCAM-1 düzeyinde bir değişiklik olmadı.

12-sVCAM-1 düzeyi ile çalıştığımız diğer parametreler arasında, hastalığın kliniği, bronşial hiperreaktivitenin ve hava yolu obstrüksiyonunun derecesi ile anlamlı bir korelasyon tesbit edilemedi. Serum sVCAM-1 düzeyinin astmada artmış olmasına rağmen astmada altta yatan inflamasyonun ve astma tedavisinin değerlendirilmesinde güvenilir bir gösterge olmadığı görüldü.

13-Budesonidin kuru toz inhaler formu olan Pulmicorte Turbuhaler<sup>®</sup>'in çocukluk çağı bronşial astma hastalığının tedavisinde etkili bir ilaç olduğu gözlemlendi.

## KAYNAKLAR

1. Guidelines for the diagnosis and management of asthma. National Heart, Lung and Blood Institute / Highlights of the Expert Panel Report II. National Institute of Health. February 1997 .
2. Kay AB. Asthma and inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 1991 ; 87 : 893-900.
3. Barnes PJ, Pederson J. Efficacy and safety of inhaled corticosteroids in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1993 ; S148 : 1-26.
4. Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY, Barneon G et al. Eosinophilic inflammation in asthma. *N Eng J Med* 1990 ; 323 : 1033-1039.
5. Bchner BS, Schleimer RP. The role of adhesion molecules in human eosinophil and basophil recruitment. *J Allergy Clin Immunol*. 1994 ; 94 : 427-38.
6. du Bois RM, Hellewell PG, Hemingway I, Gearing AJ. Soluble cell adhesion molecules ICAM-1, ELAM-1 and VCAM-1 are present in epithelial lining fluid in patients with interstitial lung disease. *Am Rev Respir Dis*. 1992 ; 145 : 4 : A 190.
7. Montefort S, Lai CKW, Kapahi P et al. Circulating adhesion molecules in asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 1994 ; 149 : 1149-1152.
8. Kuyucu S, Kalaycı Ö. Bronşial astma immünopatolojisi. *Katkı pediatri dergisi*. 1997 ; 18 (6) : 697-704.
9. Türkteş H. Astma patogenezi . Bozkır Matbaacılık, Ankara 1996 : 1-106.
10. Burrows B, Martinez FD, Halonen M et al. Association of asthma with serum IgE levels and skin-test reactivity to allergens. *N Eng J Med*. 1989 ; 320 : 271-77.
11. Cookson WOCM, Sharp PA, Faux JA, Hopkin JM. Linkage between IgE responses underlying asthma and rhinitis and chromosome 11q. *Lancet* 1989 , 1 : 1292-95.

12. Cookson WCOM, Hopkin JM. Maternal inheritance of atopik IgE responsiveness on chromosome 11q. *Lancet* 1992 ; 340 : 381-84.
13. van Leeuwen BH, Martinson ME, Webb GC, Young IG. Molecular organization of the cytokine gene cluster, involving the human IL-3, IL-4, IL-5 and GM-CSF genes on human chromosome 5. *Blood* 1989 ; 73 : 1142-48.
14. Cookson WCOM. Genetic aspects of atopic allergy. *Allergy* 1998; 53: 9-14.
15. Keeley DJ, Neill P, Gallivan S. Comparison of the prevalence of reversible airways obstruction in rural and urban Zimbabwean children. *Thorax* 1991 ; 46 : 549-53.
16. Weitzman M, Gortmaker S, Walker DK, Sobol A. Maternal smoking and childhood asthma. *Pediatrics* 1990 ; 85 : 505-11.
17. Wardlaw AJ. The role of air pollution in asthma. *Clin Exp Allergy* 1993 ; 23 : 81-96.
18. Sporik R, Holgate S, Platts-Mills TAE, Cogswell JJ. Exposure to house dust mite allergen (Der p1) and the development of asthma in childhood. *N Eng J Med* 1990 ; 323 : 502-7.
19. Bosquet J et al. Asthma: a disease remodeling the airways. *Allergy* 1992 ; 47 : 3-11.
20. American Thoracic Society: Standards for the diagnosis and care with chronic obstructive pulmonary (COPD) and asthma. *Am Rev Respir Dis* 1987 ; 136: 225-34.
21. Williams PV. Inhalation bronchoprovocation in children. *Immunology and Allergy Clinics of North America* 1998;18:149-64.
22. Hopp RJ, Bewtra AK, Biven R. Bronchial reactivity pattern in nonasthmatic parents of asthmatics. *Ann Allergy* 1988 ; 61 : 184-6.
23. Cockcroft DW, Murdock KY, Berscheid BA. Relationship between atopy and bronchial responsiveness to histamine in a random population. *Ann Allergy* 1984 ; 53 :

26-9.

24. Salop SP , Lavery A , Atherton DL . Bronchial hyperresponsiveness in children with atopic dermatitis . *Pediatrics* 1993 ; 91 : 13-6.

25. Verpela E , Laitinen LA , Keskinen H , et al . Asthma , allergy and bronchial hyperactivity to histamine in patients with bronchiectasis . *Clin Allergy* 1978 ; 8 : 273 -80 .

26. Shapiro GG , Williams PV , Spector S . Inhalation bronchoprovocation . In: Bierman CW (Eds) *Allergy asthma and immunology from infancy to adulthood* (3rd ed). WB Saunders Company, Philadelphia, USA 1996;173-86.

27. Hargreave FE , Ramsdale EH . Airway hyperresponsiveness to methacholine or histamine in asthma: mechanisms . In: Middleton EJ (Ed) *Allergy Principles and Practice* (3rd ed). CV Mosby Co, Missouri, USA 1988;999-1007.

28. Chai H , Farr RS , Froehlich LA , Mathison DA . Standardisation of bronchial inhalation challenge procedures . *J All Clin Immunol* 1975 ; 56 : 323-7.

29. Ryan G , Dolovich MB , Roberts RS . Standardisation of inhalation provocation tests : two techniques of aerosol generation and inhalation compared . *Am Rev Respir Dis* 1981 ; 123 : 195-9.

30. Anderton RJ , Cuff MT , Frith PA . Bronchial responsiveness to histamine and exercise . *J Allergy Clin Immunol* 1979 ; 63 : 315-9.

31. Cockcroft DW , Killian DN , Mellon JJA , Hargreave FE . Bronchial reactivity to inhaled histamine : a method and a clinical survey . *Clin All* 1977 ; 7 : 235-43.

32. Sears MR , Jones DT , Holdaway MD et al . Prevalence of bronchial reactivity to inhaled methacoline in New Zealand children . *Thorax* 1986 ; 41 : 283.

33. Pattemore PK , Holgate ST . Bronchial hyperresponsiveness and its relationship

to asthma in childhood. *Clin Exp All* 1993 ; 23 : 886-900.

34. Adalıoğlu G. Astmada n3ral mekanizmalar. *Katkı pediatri dergisi* 1997;18:705-11.

35. Manning PJ, Watson RM, Margolskee DJ. Inhibition of exercise - induced bronchoconstriction by MK-571, a potent leukotriene D4 antagonist. *N Eng J Med* 1990; 323 : 1736-39.

36. Greenberger PA. Asthma. In:Pettersen R (Eds) *Allergic Diseases Diagnosis and Management* (5th ed) Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, USA 1997;467-535.

37. McFadden ERJ. Asthma: airway dynamics, cardiac function and clinical correlates. In:Middleton EJ (Ed) *Allergy Principles and Practice* (3rd ed). CV Mosby Co, Missouri, USA 1988;1018-36.

38. Berkman JS , Weller PF . Airway eosinophils and lymphocytes in asthma : birds of a feather ? *Am Rev Respir Dis* 1992 ; 145 : 1246-8.

39. Wardlaw AJ, Dunette S, Gleich GJ et al. Eosinophils and mast cells in bronchoalveolar lavage in subjects with mild asthma. *Am Rev Respir Dis* 1988; 137: 62-69.

40. Griffin E, Hakansson L, Formgren H et al. Blood eosinophil number and activity in relation to lung function in patients with asthma and with eosinophilia. *J Allergy Clin Immunol* 1991;87:548-57.

41. Corrigan CJ, Kay AB. T cells and eosinophils in the pathogenesis of asthma. *Immunol Today* 1992;13:501-7.

42. Wallen N , Kita H , Weiler D , Gleich GJ . Glucocorticoids inhibit cytokine mediated eosinophil survival . *J Immunol* 1991 ; 147 : 3490-5.

43. Lopes AF , Sanderson CJ , Gamble JR , Campbell HD , Young IG , Vadas MA. Recombinant IL-5 is a selective activator of human eosinophil function . *J Exp Med*

1988 ; 167 : 219-24 .

44. Gordon JR, Burd PR, Galli SJ. Mast cells as a source of multifunctional cytokines. *Immunol Today* 1990 ; 11: 458-64.

45. Del Prete G, Maggi E, Parronchi P, et al. IL-4 is an essential factor for IgE synthesis induced in-vitro by human T cell clones and their supernatants. *J Immunol* 1988 ; 140 : 4193-8.

46. Durham SR, Loegering DA, Dunette S, et al. Blood eosinophils and eosinophil derived proteins in allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1989;84:931-6.

47. Slifman NR, Adolphson CR, Gleich GJ. Eosinophils: biochemical and cellular aspects. In: Middleton EJ (Ed) *Allergy Principles and Practice* (3rd ed). CV Mosby Co, Missouri, USA 1988;179-205.

48. Montan PG, et al. Sustained eosinophil cationic protein release into tears after a single high-dose conjunctival allergen challenge. *Clin Exp Allergy* 1996;26:1125-30.

49. Zimmerman B, Lanner A, Enander I, et al. Total blood eosinophils, serum ECP and EPX in childhood asthma: relation to disease status and therapy. *Clin Exp Allergy* 1993;23:564-70.

50. Juntunen-Backman K, Jarvinen P, Sorva R. Serum ECP during treatment of asthma in children. *J Allergy Clin Immunol* 1993;92:34-8.

51. Calderon E, Lockey RF. A possible role for adhesion molecules in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1992;90:852-65.

52. Canonica GW, Ciprandi G, Buscaglia S, Pesce G, Bagnasco M. Adhesion molecules of allergic inflammation : recent insights into their functional roles . *Allergy*

1994 ; 49 : 135-41.

53. Mackay CR, Imhof BA. Cell adhesion in the immune system. *Immunol Today* 1993; 14 : 99-102.
54. Smith CH, Barker JNWN, Lee TH. Adhesion molecules in allergic inflammation. *Am Rev Respir Dis* 1993 ; S148 : 75-78.
55. Walsh GM, Mermoud JJ, Hartnell A, Kay AB, Wardlaw AJ. Human eosinophil, but not neutrophil, adherence to IL-1 stimulated human umbilical vascular endothelial cells is VLA-4 dependent. *J Immunol* 1991 ; 146 : 3419-23.
56. Hogg N. Roll, roll, roll your leucocyte gently down the vein... *Immunol Today* 1992;13:113-115.
57. Bevilacqua MP. Endothelial leukocyte adhesion molecules. *Ann Rev Immunol* 1993; 11 : 767-804.
58. Williams AF, Barclay AN. The immunoglobulin superfamily - domains for cell surface recognition. *Ann Rev Immunol* 1988 ; 6 : 381-405.
59. Montefort S, Holgate ST, Howarth PH. Leucocyte-endothelial adhesion molecules and their role in bronchial asthma and allergic rhinitis. *Eur Respir J* 1993 ; 6 : 1044-54.
60. Lisby S, Ralfkiaer E, Rothlein R, Vejlsgaard GL. Intercellular adhesion molecule - 1 (ICAM-1) expression correlated to inflammation. *Br J Dermatol* 1989 ; 120 : 479-84.
61. Dustin ML, Singer KH, Tuck DT, Springer TA. Adhesion of T lymphoblasts to epidermal keratinocytes is regulated by IFN-gamma and is mediated by Intercellular Adhesion Molecule-1 (ICAM-1). *J Exp Med* 1988 ; 167 : 1323-40.
62. Sehmi R, Wardlaw AJ, Cromwell O, Kurihara K, Waltman P, Kay AB. Interleukine-5 selectively enhances the chemotactic response of eosinophils obtained from normal but not eosinophilic subjects. *Blood* 1992 ; 79 : 2952-59.

63. Greve JM , Davis G , Meyer AM , Forte CP , Yost SC , Marlor CW , Kamarck ME, McClelland A . The major human rhinovirus receptor is ICAM-1 . *Cell* 1989 ; 56 : 839-47.
64. Schleimer RP, Bochner BS. The role of adhesion molecules in allergic inflammation and their suitability as targets of antiallergic therapy. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 15-23.
65. Dustin ML , Springer TA . Lymphocyte function associated antigen - 1 (LFA-1) interaction with ICAM-1 is one of at least three mechanisms for lymphocyte adhesion to cultured endothelial cells . *J Cell Biol* 1988 ; 107 : 321-31.
66. Bloemen PGM, van den Tweel MC, Henricks PAJ et al. Expression and modulation of adhesion molecules on human epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1993; 9: 586-93.
67. Rice GE, Gimbrone MA, Bevilacqua MP. Tumor cell-endothelial interactions increased adhesion of human melanoma cells to activated vascular endothelium. *Am J Pathol* 1988; 133:204-10.
68. Rice GE, Bevilacqua MP. An inducible endothelial cell surface glycoprotein mediates melanoma adhesion. *Science* 1989;246:1303-6.
69. Rice GE, Munro JM, Bevilacqua MP. Inducible cell adhesion molecule 110 (INCAM-110) is an endothelial receptor for lymphocytes a CD11/CD18 independent adhesion mechanism. *J Exp Med* 1990;171:1369-74.
70. Rice GE, Munro JM, Corless C, Bevilacqua MP. Vascular and nonvascular expression of INCAM-110 a target for mononuclear leucocyte adhesion in normal and inflamed human tissues. *Am J Pathol* 1991;138:385-93.



71. Schleimer RP, Sterbinsky SA, Kaiser J et al. IL-4 induces adherence of human eosinophils and basophils but not neutrophils to endothelium. *J Immunol* 1992;148:1086-92.
72. Carlos TM, Schwartz BR, Kovach NL et al. Vascular cell adhesion molecule-1 mediates lymphocyte adherence to cytokine activated cultured human endothelial cells. *Blood* 1990;76:965-70.
73. Schwartz BR, Wayner EA, Carlos TM, Ochs HD, Harlan JM. Identification of surface proteins mediating adherence of CD11/CD18-deficient lymphoblastoid cells to cultured human endothelium. *J Clin Invest* 1990; 85: 2019-22.
74. Wayner EA, Garcia-Pardo A, Humphires MJ et al. Identification and characterization of the T lymphocyte adhesion receptor for an alternative cell attachment domain (CS-1) in plasma fibronectin. *J Cell Biol* 1989;109:1321-30.
75. Guan JL, Hynes RO. Lymphoid cells recognize an alternatively spliced segment of fibronectin via the integrin receptor alpha-4beta-1. *Cell* 1990;60:53-61.
76. Marks NO, Davis LS, Bogue DT, Ramberg J, Lipsky PE. Differential utilization of ICAM-1 and VCAM-1 during the adhesion and transendothelial migration of human T lymphocytes. *J Immunol* 1991; 147: 2913-21.
77. Dobrina A, Menegazzi R, Carlos TM et al. Mechanisms of eosinophil adherence to cultured vascular endothelial cells. *J Clin Invest* 1991;88:20-26.
78. Kyan-Aung U, Haskard DO, Lee TH. Vascular cell adhesion molecule-1 and eosinophil adhesion to cultured human umbilical vein endothelial cells invitro. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1991;5:445-50.

79. Ryan DH, Nuccie BL, Abboud CN, Winslow JM. Vascular cell adhesion molecule-1 and the integrin VLA-4 mediate adhesion of human B cell precursors to cultured bone marrow adherant cells. *J Clin Invest* 1991; 88: 995-1004.
80. Miyake K, Medina K, Ishihara K et al. A VCAM-like adhesion molecule on murine bone marrow stromal cells mediates binding of lymphocyte precursors in culture. *J Cell Biol* 1991;114:557-565.
81. Freedman AS, Munro JM, Morimoto C et al. Follicular non-hodgkin's lymphoma cell adhesion to normal germinal centers and neoplastic follicles involves very late antigen-4 and vascular cell adhesion molecule-1. *Blood* 1992;79:206-12.
82. Rosen GD, Sanes JR, LaChance R, Cunningham JM, Roman J, Dean DC. Roles for the VLA-4 and its counter receptor VCAM-1 in myogenesis. *Cell* 1992; 69: 1107-1119.
83. Bochner BS, Klunk DA, Sterbinsky SA et al. IL-13 selectively induces vascular cell adhesion molecule-1 expression in human endothelial cells. *J Immunol* 1995;154:799-803.
84. Banks RE, Gearing AJH, Hemingway IK, Norfolk DR, Perren TJ, Selby PJ. Circulating intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), E-selectin and vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1) in human malignancies. *Br J Cancer* 1993; 68: 122-24.
85. Mason JC, Kapahi P, Haskard DO. Detection of increased levels of circulating intercellular adhesion molecule-1 in some patients with rheumatoid arthritis but not in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1993; 36: 519-27.
86. Robinson DR, Hamid Q, Ying S, et al. Evidence for a predominant Th-2 type bronchoalveolar lavage T lymphocyte population in atopic asthma. *N Engl J Med* 1992; 326: 298-304.

87. Mossman TR, Coffmann RL. Th-1 and Th-2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different function properties. *Ann Rev Immunol* 1989; 7 : 145-73.
88. Thornhill MH, Haskard DO. IL-4 regulates endothelial cell activation by IL-1, tumor necrosis factor or IFN-gamma. *J Immunol* 1990; 145 : 865-72.
89. Simons FER. Pharmacology and therapeutics. In: Bierman CW (Eds) *Allergy asthma and immunology from infancy to adulthood* (3rd ed). WB Saunders Company, Philadelphia, USA 1996; 208-36.
90. Schleimer RP. Glucocorticosteroids, their mechanisms of action and use in allergic diseases. In: Middleton EJ (Ed) *Allergy Principles and Practice* (3rd ed). CV Mosby Co, Missouri, USA 1988; 739-65.
91. Guyre PM, Girard MT, Morganelli PM, Manganiello PD. Glucocorticoid effects on the production and actions of immune cytokines. *J Steroid Biochem* 1988; 30 : 89-93.
92. Adcock IM, Brönnegard M, Barnes PJ. Glucocorticoid receptor mRNA localization and expression in human lung (abs.). *Am Rev Respir Dis* 1991; 143 : A628.
93. Bresnick EH, Dalman FC, Sanchez ER, Pratt WB. Evidence that the 90-kDa heat shock protein is necessary for the steroid binding conformation of the L cell glucocorticoid receptor. *J Biol Chem* 1989; 264 : 4992-7.
94. Rosewicz S, McDonald AR, Maddux BA, Goldfine ID, Miesfeld RL, Logsdon CD. Mechanism of Glucocorticoid receptor down-regulation by glucocorticoids. *J Biol Chem* 1988; 263 : 2581-4.
95. Kern JA, Lamb RJ, Reed JC, Daniele RP, Nowell PC. Dexamethasone inhibition of interleukin - 1 beta production by human monocytes. Posttranscriptional mechanism. *J Clin*

Invest 1988 ; 81 : 237-44.

96. Goulding NJ, Godolphin JL, Sharland PR, et al. Anti-inflammatory lipocortin 1 production by peripheral blood leucocytes in response to hydrocortisone. *Lancet* 1990 ; 335 : 1416-8.

97. Flower RJ. Lipocortin and the mechanism of action of the glucocorticoids. *Br J Pharmacol* 1988 ; 94 : 987-1015.

98. Borson DB, Gruenenert DC. Glucocorticoids induce neutral endopeptidase in transformed human tracheal epithelial cells. *Am J Physiol* 1991 ; 260 : L83-9.

99. Collins S, Caron MG, Lefkowitz RJ. Beta<sub>2</sub>-adrenergic receptors in hamster smooth muscle cells are transcriptionally regulated by glucocorticoids. *J Biol Chem* 1988 ; 263 : 9067-70.

100. Her E, Frazer J, Austen KF, Owen WF Jr. Eosinophil hematopoietins antagonise the programmed cell death of eosinophils. Cytokine and glucocorticoid effects on eosinophils maintained by endothelial cell conditioned medium. *J Clin Invest* 1991;88:1982-7.

101. Hoshino M, Nakamura Y, Sim JJ et al. Inhaled corticosteroid reduced lamina reticularis of the basement membrane by modulation of insulin-like growth factor (IGF)-I expression in bronchial asthma. *Clin Exp Allergy* 1998; 28: 568-77.

102. Agertoft L, Pedersen S. Effects of long-term treatment with an inhaled corticosteroid on growth and pulmonary function in asthmatic children. *Resp Med* 1994;88:373-81.

103. Vatrella A, Ponticciello A, Parrella R, et al. Serum eosinophil cationic protein (ECP)

as a marker of disease activity and treatment efficacy in seasonal asthma. *Allergy* 1996;51:547-55.

104. Şekerel BE, Saraçlar Y, Tuncer A, Adalıoğlu G, Çetinkaya F. Standardization of methacholine inhalation challenge. *Turk J Pediatr* 1997; 39: 165-72.

105. Bernstein IL. Proceedings of the task force on guidelines for standardizing old and new technologies used for the diagnosis and treatment of allergic diseases. *J Allergy Clin Immunol* 1988; 82 : 487-526.

106. De Baets FM, Goeteyn M, Kerrebijn KF. The effect of two months of treatment with inhaled budesonide on bronchial responsiveness to histamine and house-dust mite antigen in asthmatic children. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142; 581-86.

107. Nimmagadda SR, Spahn JD, Nelson HS et al. Fluticasone propionate results in improved glucocorticoid receptor binding affinity and reduced oral glucocorticoid requirements in severe asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1998;81:35-40.

108. Pederson W, Hjuler I, Bisgaard H et al. Nasal inhalation of budesonide from a spacer in children with perennial rhinitis and asthma. *Allergy* 1998; 53: 383-7.

109. Pauwels R. Additive effects of inhaled formoterol and budesonide in reducing asthma exacerbations. *Allergy* 1998; 53 : 20-3.

110. Türkteş I, Demirsoy S, Koç E et al. Effects of inhaled steroid treatment on serum eosinophilic cationic protein (ECP) and low affinity receptor for IgE in childhood asthma. *Arch Dis Child* 1996;75:314-8.

111. Niimi A, Amitani R, Suzuki K et al. Serum eosinophilic cationic protein as a marker of eosinophilic inflammation in asthma. *Clin Exp Allergy* 1997;28:233-40.

112. Şekerel BE, Tuncer A, Saraçlar Y, Adalıoğlu G. Inhaled budesonide reduces lung hyperinflation in children with asthma. *Acta Pediatr* 1997; 86: 932-7.
113. Bootsma GP, Koenderman L, Dekhuijzen PNR et al. Effects of fluticasone propionate and beclometasone dipropionate on parameters of inflammation in peripheral blood of patients with asthma. *Allergy* 1998;53:653-61.
114. Fujisawa T, Terada A, Atsuta J et al. Clinical utility of serum levels of eosinophilic cationic protein (ECP) for monitoring and predicting clinical course in childhood asthma. *Allergy* 1998; 28:19-25.
115. Van Bever HP, Moens MM, Bridts CH et al. Effects of a bronchial provocation test with house-dust mite on blood eosinophilia, eosinophilic cationic protein, soluble IL-2 receptor and IL-6 in asthmatic children. *Allergy* 1998;48:443-9.
116. Adelroth E, Rosenhall L, Johansson S et al. Inflammatory cells and eosinophilic activity in asthmatics investigated by bronchoalveolar lavage. *Am Rev Respir Dis* 1990; 142: 91-99.
117. Bochner BS, Luscinskas FW, Gimbrone MA et al. Adhesion of human basophils, eosinophils and neutrophils to IL-1 activated human vascular endothelial cells: contributions of endothelial cell adhesion molecules. *J Exp Med* 1991;173:1553-6.
118. Bentley AM, Durham SR, Robinson DS et al. Expression of endothelial and leukocyte adhesion molecules intercellular adhesion molecule-1, E-selectin, and vascular cell adhesion molecule-1 in the bronchial mucosa in steady-state and allergen-induced asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1993;92:857-68.
119. Peden DB, Berger WE, Noonan MJ et al. Inhaled fluticasone propionate delivered

by means of two different multidose powder inhalers is effective and safe in a large pediatric population with persistent asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102: 32-8.

Tarih: (Lütfen Ay ve Gün olarak yazınız.)																			
Zirve Akım Hızı (Rakam ile)																			
Sabah Akşam																			
Gece öksürük, hırıltı ve nefes darlığı																			
Yok.....0																			
Hafif.....1																			
Orta.....2																			
Kötü.....3																			
Gündüz öksürük, hırıltı ve nefes darlığı																			
Yok.....0																			
Hafif.....1																			
Orta.....2																			
Kötü.....3																			
Gündüz aktivitesi Oldukça normal.....0																			
Kısa mesafe koşabiliyor.1																			
Yürümesi kısıtlı.....2																			
Evden çıkamıyor.....3																			
Balgam																			
Yok.....0																			
Az.....1																			
Çok.....2																			
Son 24 saat içinde kaç sefer nefes açıcı ilaç kullandı?																			
Son 24 saat içinde nefes açıcı ilaç dışında kullandığı diğer ilaçları baş harfleri ile belirtiniz.																			

**HASTANIN ADI VE SOYADI:**

- \* Bu günlük izlem kartı çocuğunuzun hastalığı hakkında hekiminizin daha fazla bilgi edinmesini sağlayacaktır.
- \* Her gün için ayrı bir sütun ayrılmıştır. Bu sütunu, o günün akşamı, son 24 saatlik durumu gözönüne alarak doldurunuz. Her belirti için, çocuğunuzun iyi yansıttığını düşündüğünüz puanı, ilgili yere yazınız.
- \* Zirve akım hızlarını sabah ve akşamları hep aynı saatte ölçünüz. Her seferinde en az üç sefer üfletiniz ve en yüksek olan değeri kaydediniz.
- \* Dr.İshak İŞİK ile temas kurabileceğiniz telefonlar: İş:3242511 Ev:

**DİKKAT! BU KART ÖNEMLİDİR, İYİ MUHAFAZA EDİNİZ.**

**LÜTFEN .../.../1997 TARİHİNDE SAAT 08.00 DA KONTROLE GELİRKEN BERABERİNİZDE GETİRMİYİ UNUTMAYINIZ.**