

**T.C  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ASTIMLI ÇOCUKLARDA CCL28  
DÜZEYİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Tezi Hazırlayan  
Filiz DURSUN**

**Tezi Yöneten  
Prof.Dr.A.Nedret KOÇ**

**Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**Ocak 2007  
KAYSERİ**

**T.C  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ASTIMLI ÇOCUKLARDA CCL28  
DÜZEYİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Tezi Hazırlayan  
Filiz DURSUN**

**Tezi Yöneten  
Prof.Dr.A.Nedret KOÇ**

**Mikrobiyoloji Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından SBT-.06-11 nolu  
proje ile desteklenmiştir.**

**Ocak 2007  
KAYSERİ**

**Prof.Dr.A.Nedret KOÇ** Danışmanlığında **Filiz DURSUN** tarafından hazırlanan: “**Astımlı Çocuklarda CCL28 Düzeyinin Araştırılması**” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Mikrobiyoloji** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

24 / 01 / 2007

**JÜRİ**

**İmza**

Başkan : **Prof.Dr.A.Nedret KOÇ**

Üye : **Doç. Dr. Selma GÖKAHMETOĞLU**

Üye : **Yard. :Doç. Dr. Fulya TAHAN**

**ONAY:**

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun .....tarih ve ..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

**Enstitü Müdürü**  
**Prof. Dr. Meral AŞÇIOĞLU**

### TEŞEKKÜR

Bu tezi hazırlamamda bana her türlü desteği veren ve çalıőmalarımı yönlendiren hocam sayın Prof. Dr. A. Nedret KOÇ'a, Anabilim Dalına geldiğim ilk günden itibaren her zaman yanımda olan hocam sayın Prof. Dr. Yusuf ÖZBAL'a, örnekleri almamda yardımlarını esirgemeyen hocam sayın hocam Yard. Doç. Dr. Fulya TAHAN'a, İngilizce çevirilerimde destek ve yardımcı olan sayın hocam Yard. Doç. Dr. Servet ÖZCAN'a ve diğer hocalarıma teşekkür ederim.

Deneysel çalıőmalarımda yardımları olan ELISA ve seroloji laboratuvarı çalıőanlarına, her türlü destekleriyle beni yalnız bırakmayan aileme ve Mikrobiyoloji Anabilim Dalı çalıőanlarına teşekkür ederim.

## ASTIMLI ÇOCUKLARDA CCL28 DÜZEYİNİN ARAŞTIRILMASI

### ÖZET

Astım, çocukluk çağında çok sık rastlanan kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Astımlı bireylerde IgE ve eozinofil düzeylerinin yükselmesi tanıda kullanılmakla birlikte astım etiyojisi tam olarak anlaşılabilmiş değildir. Astım immünolojisinde IL-2, IL3, IL4, IL5, IL6, IL9, IL10, IL12, IL13 gibi sitokinler ve CCL5 ve CCL11 gibi kemokinler önemli roller üstlenirler. Astım etiyojisinde inflamasyonun da önemi vardır. CC kemokinlerden olan CCL28'in düzeyinin inflamasyonlu olgularda yükseldiği tespit edilmiştir.

Bu çalışmanın amacı astım sürecinde CCL28 düzeyinin belirlenmesidir. Bu çalışmada, Erciyes Üniversitesi Pediatri polikliniğinde astım tanısı almış, 3-14 yaş grubu 53 hasta çocuk ve kontrol grubu olarak 16 sağlıklı çocuktan alınan serum örnekleri kullanılmıştır. CCL28 analizi ELISA, CRP analizi nefelometri yöntemiyle yapılmıştır. Ayrıca hasta ve kontrol gruplarında IgE, eozinofil yüzdeleri ve eozinofil sayıları tespit edilmiş, yaş, kilo, boy, ailede alerji hikayeleri kaydedilmiştir.

Astım ile IgE, atopi, aile atopi öyküsü, eozinofil sayısı ve eozinofil yüzdesi arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki bulunmuştur. Buna karşın astım ile CRP ve CCL28 düzeyleri arasındaki istatistiksel açıdan anlamlı ilişki belirlenmemiştir. CCL28 düzeyi ile yaş, kilo, boy, cinsiyetler arasındaki istatistiksel açıdan ilişki bulunmamıştır. CCL28 ile IgE düzeyi, eozinofil sayıları ve yüzdeleri arasında istatistiksel açıdan negatif, CRP düzeyi arasında ise pozitif korelasyon saptanmıştır.

Sonuç olarak, CCL28 ile IgE düzeyi, eozinofil sayıları ve yüzdeleri arasında istatistiksel açıdan negatif korelasyon göstermesi, CCL28'in alerjik reaksiyonlarında rol almadığı veya rolünün az olduğunu gösterebilir. Ancak bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu görülmektedir. CCL28 ile CRP arasında pozitif korelasyonun bulunması, inflamasyonun neden olduğu hastalıklarda CCL28'in belirleyici parametre olarak kullanılabileceğini belirtmektedir. Ancak bu konuda daha ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir.

**Anahtar kelimeler:** Astım, kemokin, CCL28

## THE DETECTION OF CCL28 LEVEL IN THE ASTHMATIC CHILDREN

### ABSTRACT

Asthma is a disease frequently encountered during childhood. In asthmatic individuals, the increased level of IgE and eosinophils could be used in diagnostic, the etiology of asthma has not been well understood. Cytokines such as IL2, IL3, IL4, IL5, IL6, IL9, IL10, IL12, IL13 and chemokines like CCL5 and CCL11 play an important role in the immunology of asthma. Inflammation is also important in asthma etiology. In the cases of inflammations, it has been determined that the level of CCL28 chemokine of CC groups has increased.

The aim of the study was to determine CCL28 levels during asthma. In this study, serum samples were used from 53 children diagnosed with asthma aged from 3 -14 years and a control group consisting of 16 children at Erciyes University, Pediatric Clinic. CCL28 was analysed by using ELISA and CRP by nephelometric methods. IgE, eosinophil percent and the number of eosinophil was determined from patient and control groups age, height, weight family allergy history was recorded.

It has been found that the relationship between asthma and IgE, atopy, family atopy level, number of eosinophil and the percentage of eosinophil is statistically significant. On the contrary, asthma and the level of CRP and CCL28 was found to be statistically insignificant. The relationship between CCL28 and age, weight, height and gender was statistically insignificant. CCL28 and IgE, the correlation between eosinophil number and percentage has a negative statistical relationship, there is a positive correlation between the level of CRP.

Since there is a negative correlation between CCL28 and IgE level, eosinophil number and percentage, it can be concluded that CCL28 plays a slight role or does not play a role in allergic reactions. As there is a positive correlation between CCL28 and CRP, CCL28 could be used as determining parameter for the illness which has been caused by inflammation. These results suggest that further studies are needed for better understanding of these cases.

**Key words:** Asthma, Chemokine, CCL28

## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
İÇ KAPAK .....	I
KABUL VE ONAY SAYFASI .....	II
TEŞEKKÜR .....	III
ÖZET .....	IV
ABSTRACT .....	V
İÇİNDEKİLER .....	VI
TABLO VE ŞEKİL LİSTESİ	
.....	VI
II	
KISALTMALAR .....	IX
1. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. ASTIMIN TARİHÇESİ VE TANIMI.....	3
2.2. ASTIM EPİDEMİYOLOJİSİ.....	4
2.3. ÇOCUKLARDA ASTIM ATAKLARINI TETİKLEYEN FAKTÖRLER.....	4
2.4. ASTIMDA İMMÜNOLOJİK MEKANİZMALAR.....	5
2.5. ASTIMDA PATOGENEZ .....	9
2.5.1. Mast Hücreleri ve Bazofiller.....	9
2.5.2. Eozinofiller.....	10
2.5.3. Sitokinler ve T Lenfositler. ....	11
2.5.3.1. T Hücre Farklılaşması ve İnflamasyon .....	11
2.5.3.2. Sitokinler .....	11
2.5.3.2.1. Sitokinlerin Genel Özellikleri.....	12
2.5.3.2.2. Sitokinlerin Genel Etkileri.....	13
2.5.3.2.3. Sitokin Reseptör İlişkisi .....	14

2.5.3.3. Kemokinler .....	14
2.5.3.3.1. Kemokinlerin Yapısal Özellikleri ve İsimlendirilmeleri ..	14
2.5.3.3.2. Kemokinlerin Reseptör Bağlaması ve Aktivasyonu.....	15
2.5.3.3.3. CC Kemokinlerin Temel Fonksiyonları .....	16
2.5.3.3.4. Lökosit Adaptasyonu ve Migrasyonunda CC Kemokinlerin Rollerini .....	17
2.5.3.3.5. İnflamasyon, Alerjik Hastalıklar ve Astım Sürecinde CC Kemokinlerin Rollerini .....	18
2.5.3.4. CCL28 .....	19
2.5.3.4.1. Eozinofiller Üzerinde CCL28'in Fonksiyonel Rollerini ....	20
2.5.3.4.2. İnflamasyon, Alerjik Hastalıklar ve Astım Sürecinde CCL28'in Rolü .....	21
2.6. DİĞER PARAMETRELER .....	22
2.6.1. C-Reaktif Protein (CRP).....	22
2.6.2. IgE .....	23
2.6.3. Atopi .....	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM .....	24
3.1. KULLANILAN YARDIMCI ARAÇLAR.....	25
3.2. ELISA YÖNTEMİ İLE CCL28 DÜZEYİNİN BELİRLENMESİ.....	25
3.2.1. Örneklerin Hazırlanması .....	25
3.2.2. Kalibratörün Hazırlanması .....	25
3.2.3. Test Prosedürü .....	26
3.3. DİĞER ANALİZLER.....	26
3.3.1. CRP Analizi.....	26
3.3.2. Eozinofil Düzeyinin Belirlenmesi .....	26
3.3.3. Total IgE ve Spesifik IgE Düzeyinin Belirlenmesi .....	27
3.4. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME.....	27
4. BULGULAR.....	28
5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	37
6. KAYNAKLAR .....	43
ÖZGEÇMİŞ	



## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Astım çocukluk çağında sıklıkla rastlanan rahatsızlıklardan biridir, Küçük yaşlarda başlayan astım ataklar halinde seyretmekte ileri yaşlarda da devam edebilmektedir. Astım ilerleyen süreçlerde morbiditeye hatta mortaliteye neden olabilmektedir.

Altta yatan hastalıklar, inflamasyon, atopi ve alerjenler astımı tetikleyen faktörlerdendir. Ayrıca bu süreçte eozinofillerin, IgE'nin ve T lenfositlerin görev aldığı da bilinmektedir.

Astım patolojisi ve immünolojisinin karmaşık etiyolojiye sahip olması araştırmacıları sitokinleri ve dolayısıyla kemokinleri araştırmaya sevk etmiştir. Özellikle RANTES ve Eotaksin gibi kemokinlerin astım sürecinde eozinofil ve T lenfositlerin aktivasyonunda önemli roller üstlendikleri kanıtlanmıştır. Yine kemokin reseptörlerinden CCR3'ün yokluğunda eozinofil migrasyonunun engellendiği gözlenmiştir. Ayrıca CCR10'un inflamasyon aşamasında mukozal yüzeylerde aktivite gösterdiği tespit edilmiştir. CCR10 sadece CCL27 ve CCL28 için reseptördür. CCL28'in mukozal yüzey inflamasyonunda görev aldığı belirlenmiştir. Ayrıca atopik dermatitisli olgularda CCL28 düzeyinin yükseldiği tespit edilmiştir. Tüm bunlara dayanılarak astımda CCL28'in rol alabileceğini düşündürmüştür.

Bu çalışmada, astımlı çocuklarda CCL28 düzeyinin belirlenmesi ve astım tanısında ve takibinde kullanılan bazı parametrelerle ( yaş, kilo, boy, cinsiyet, total IgE, CRP, eozinofil yüzdeleri ve eozinofil sayıları, atopi ve ailede alerji hikayeleri) karşılaştırılması amaçlanmıştır.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. ASTIMIN TARİHÇESİ VE TANIMI**

Astım, Yunanca “soluksuzluk” veya “ağzı açık solumak” sözlük anlamlarını taşır. Hipokrat astımda hava giriş ve çıkışını engelleyen çeşitli maddelerden söz etmiştir Hipokrat’ın arteritli hastalarda nefes darlığı olduğunu belirttiğine dair bilgiler olmakla birlikte ilk ayrıntılı bilgiler Galen ve Aretaeus tarafından ortaya konmuştur. Astım kelimesi İngilizcede ilk defa 1542 yılında, Yunanca "üfleme, zorlu üfleme" köklerinden türetilerek kullanılmıştır (1,2).

Yirminci yüzyılda solunum fiziolojisi hakkındaki bilgilerin artmasıyla astımda semptomlara neden olan temel fonksiyonel bozukluğun, hava yollarının daralması olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca immünolojinin gelişmesiyle ve bronkoskopinin katkıları ile astım tanımı günümüzde şu şekilde yapılmaktadır: “Astım; mast hücreleri, eozinofiller ve T lenfositler başta olmak üzere değişik hücrelerin rol oynadığı havayollarının kronik inflamatuvar bir hastalığıdır.” Duyarlı kişilerde hava yollarındaki bu inflamasyon, nöbetler şeklinde gelen öksürük, nefes darlığı, hışıltılı solunum, göğüste sıkışma hissine neden olmaktadır ve yakınmalar özellikle gece ve sabaha karşı ortaya çıkmaktadır. Hastada var olan bu semptomlar, diffüz hava yolu obstrüksiyonuna bağlıdır. Havayolu

obstrüksiyonu değişik derecelerde olup, genellikle geri dönüşümlüdür ve spontan olarak ya da tedavi ile düzeltilebilir. Ayrıca havayollarındaki kronik inflamasyon hava yollarının değişik uyarılara karşı duyarlılığının artmasına, bir başka deyimle bronş hiperreaktivitesine neden olmaktadır (3,4).

## **2.2. ASTİM EPİDEMİYOLOJİSİ**

Astım çocukluk çağının en sık görülen sağlık sorunlarından biridir. Hastalığın dünya üzerindeki dağılımı, ülkeden ülkeye ve bazen bir ülke içinde bölgeden bölgeye değişim göstermektedir. Astım prevalansı sanayileşmiş ülkelerde daha yüksektir. 1980–1990 yılları arasında dünyada hemen her ülkede astım prevalansında ve mortalitesinde belirgin artışlar olduğu tespit edilmiştir. Astım, Amerika Birleşik Devletleri gibi gelişmiş ülkelerde yaygın olmakla birlikte tüm dünya ülkelerinin sorunudur. Çocuklarda prevalans çalışmaları, 3-16 yaş grubunda prevalansın ülkelere göre % 0.6-49 arasında değiştiğini göstermiştir. ISAAC (The International Study of Asthma and Allergies in Childhood) sonuçlarına göre astımda en yüksek prevalansının İngiltere, Avustralya, Yeni Zelanda ve İrlanda Cumhuriyetine ait olduğu bunu Kuzey, Güney ve Orta Amerikanın izlediği görülmüştür. Avustralya ve Yeni Zelanda'da sıklık %15-20 olarak bulunmuştur. Avrupa ülkelerindeki prevalans %5-10 arasında değişmektedir. En düşük prevalanslar ise Endonezya, Yunanistan, Çin, Tayvan, Özbekistan, Hindistan ve Etiyopya'da bulunmuştur. Asya ülkeleri, kuzey Amerika, Kızılderililer ve Eskimolarda prevalans %1'den az olarak bildirilmiştir (5,6).

Ülkemizde çocuklarda astımın rastlanma oranı % 6-8 civarındadır. Ülkemizde her 10-15 çocuktan birinde astıma benzer bulgular vardır. Bölgesel dağılım olarak astım en fazla batı ve kuzey-doğuda olup bunu güney ve orta batının izlediği görülmüştür (7,8).

## **2.3. ÇOCUKLARDA ASTİM ATAKLARINI TETİKLEYEN FAKTÖRLER**

Astımlı çocuklarda ilk hışıltı atağı çok erken yaşlarda başlamaktadır. Hatta astımın 3 yaşından önce başlamasının daha şiddetli hastalık riski taşıdığı, ayrıca nüks riskinin yüksek olduğu gösterilmiştir (9).

Astımda solunum yollarının şişmesi ve tıkaçların oluşması sonucu havanın akciğerlere girip çıkması engellenir. Hastalar ataklar arasında kendilerini iyi hissederler. Ataklar sırasında öksürük, göğüste sıkışma hissi, solunumda hızlanma, hırıltı ve nefes darlığı

olur. Astımlı hastalar çevredeki birçok maddeye astımlı olmayanlara göre daha duyarlıdırlar (10).

Bronş düz kaslarında kasılma, ödem (şişme), inflamasyon ve hücre yıkımı, mukus (salgı) artmasına neden olur. Artan mukus, hücre yıkımı, bronş duvarında şişme ve inflamasyon, hepsi birden bronş lümeninde tıkanmaya neden olarak astım nöbetini başlatır. Bu nöbeti başlatan faktörlere tetik çeken faktörler denilmektedir (11).

Her hastada tetik çeken faktörler değişiktir. Bir hastada birden fazla faktör bulunabilir. Tetik çeken faktörleri alerjenler, solunum yolu infeksiyonları ev içi hava kirliliği (pasif sigara içiciliği, kızartma kokuları, cila, parfüm, saç spreyi, insektisitler, deterjan, çamaşır suyu, temizlik malzemeleri, deodorant, sprey kokuları), dış ortam hava kirliliği (kükürt dioksit, tozlar, ozon, egzoz gazları, polen, mantar sporları ev tozu akarları ), evcil hayvanlar, hamamböceği, bazı hava koşulları (rüzgâr, fırtına), egzersiz ve hiperventilasyon, bazı gıdalar ve katkı maddeleri, bazı ilaçlar, duygusal faktörler (stres, gülmek, ağlamak vs.), viral üst solunum yolu infeksiyonları, iyi tedavi edilmeyen diğer hastalıklar, rinit, sinüzit ve gastroözofagal reflü olarak sıralayabiliriz (12,13)

#### **2.4. ASTIMDA İMMÜNOLOJİK MEKANİZMALAR**

Klinik sunumu ve ağırlık derecesi olarak astım etiyolojisi karmaşık bir hastalıktır. Bu etiyolojik farklılık genetik ve çevresel faktörlerden köken alır. Etiyolojik farklılığa rağmen tüm klinik formlardaki ortak yan, solunum yollarında eozinofillerin hâkim olduğu ve T lenfositlerinde görev aldığı inflamasyondur. Hastaların büyük çoğunluğunda (çocukların %80'i) altta yatan bir atopi söz konusudur (14).

Astımda inflamatuvar reaksiyonları başlatan ilk olay antijen sunumudur. Bronşiyal mukozaya ulaşan antijenler antijen sunan hücreler (antigen presenting cells=APC) tarafından alınır ve proteolitik olarak 7-14 amino asit uzunluğunda peptitlere parçalanır. Bu aktivasyondan sonra APC'ler lenf nodlarına doğru göç ederler. Bu esnada son matürasyonları gerçekleşir ve yüzey moleküllerini taşımaya başlarlar. Böylece uyarılmış T hücrelerini stimüle edecek hale gelirler (15).

Antijen cinsi, antijenin nasıl sunulacağı konusunda belirleyici rol oynar. Alerjik inflamasyonla ilgili olarak ekzojen alerjenleri sunabilmesi için bir hücrenin mutlaka MHC (Histolojik uyumluluk gösteren majör bileşenler) II molekülü taşıması gereklidir. MHC I molekülü tüm vücut hücrelerinde bulunurken, MHC II molekülü yalnızca

antijen sunma konusunda özelleşmiş bazı hücrelerde bulunur. T lenfositler için en iyi tanımlanmış APC'ler dendritik hücreler, mononükleer fagositler ve B lenfositlerdir. Diğer birçok hücre de stimülasyon sonucu MHC II taşımaya başlayabilir. Bu hücreler: endotel hücreleri, epitelyal hücreler, mast hücreleri, eozinofiller ve nötrofillerdir. Ancak bu hücreler aracılığıyla gerçekleşen antijen sunumu uyarılmamış T hücrelerinin stimülasyonu için *in vivo* olarak yeterince güçlü bir uyarı oluşturmaz (16).

Atopisi olan kişilerde, antijen spesifik T hücre reseptörleri, APC üzerindeki class II MHC bölgesinde sunulan antijeni tanır. Bu tanımda bazı ikincil sinyallerde son derece önemli roller üstlenir. İkincil sinyaller olmaksızın gerçekleşen uyarı, T hücre yanıtınsızlığına (anergi) yol açabilir. APC ile CD4<sup>+</sup> T hücresi arasındaki kostimulatörlerin en önemlileri APC/T hücresi sırası ile B7/CD18;LFA-I/ICAM-I(vascular cell adhesion molecule); CD40/CD40 ligandı ve CD30 ligandı/CD30'dur (16).

APC'ler ile T hücreleri arasındaki ilişkide bir üçüncül sinyalden daha söz edilebilir. Bu üçüncül sinyal interlökin (IL)-12 ve prostoglandin (PG) E<sub>2</sub>'dir. Yüksek IL-12 ve /veya düşük PGE<sub>2</sub> sentezleyen APC'ler immatür T hücrelerde Th1 (yardımcı T hücreleri-1) tipi farklılaşmaya yol açtığı için bunlara APC-1; düşük IL-12 ve /veya yüksek PGE<sub>2</sub> salıveren APC'ler ise Th2 (yardımcı T hücreleri-2) tip farklılaşmaya yol açtığı için bunlara APC-2 denilmektedir. Mikro çevrede ki interferon (IFN)- $\gamma$  farklılaşmanın APC-1 yolunda; PGE<sub>2</sub> ve IL-10 ise APC-2 yolunda olmasına neden olmaktadır (17).

APC ile iletişim sonunda CD4<sup>+</sup> Th hücreleri iki farklı fonksiyonel alt gruba farklılaşabilirler. CD4<sup>+</sup> hücreler mikro çevrede IL-12 ve IL-18 varlığında IFN- $\gamma$  ve IL2 salgılayan Th1 hücrelere; IL-4 varlığında ise IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 ve IL-13 salıveren Th2 hücrelere farklılaşırlar. IL-3, tümör nekroz faktör alfa ( TNF- $\alpha$  ) ve granülosit makrofaj koloni stimüle edici faktör ( GM- CSF ) gibi bazı sitokinler ise her iki T hücre grubu tarafından salınır. Alerjik inflamasyonda başrolü oynayan hücreler Th2 hücrelerdir. Ancak Th1/ Th2 ayırımı T hücre fonksiyonlarının tümünü açıklamakta yetersiz kalır. Baskın olarak IL-10 üreten ve hem Th1 hem Th2 yanıtı baskılayan. Th1 yanıtı ile mukozal toleransda önemli işlevleri olan ve yüksek miktarda transforming growth factor beta (TGF- $\beta$ ) üreten bir Th-3 alt grubunun varlığından söz edilmektedir (18).

Antijen sunumu ile aktive olan Th2 molekülü mesaj iletici olarak sitokinleri salıvermeye başlar. Bu T hücreleri temel olarak  $\alpha$  / $\beta$  T hücre reseptörlerini taşır.  $\gamma$ / $\delta$

reseptörü taşıyan T hücrelerinin de alerjik inflamasyonda ayrı işlevleri bulunmaktadır. İnsan vücudundaki T hücrelerinin %10'luk bir bölümünü oluşturan  $\gamma/\delta$  T hücreleri mukozal yüzeylerde yoğun olarak bulunur. Bu hücrelerin mukozal yüzeylerde organizmanın ilk savunma mekanizmalarından birini oluşturduğu veya inflamasyonun temizlenmesinde görev aldığı öne sürülmüştür (19).

Th2 hücre tarafından salınan IL-4 ve IL-13, B lenfositten IgE (immün globülin E) sentezi için 1. sinyali sağlar (germline transcription). İkinci sinyal ise T / B hücreleri arasındaki (T/B sırası ile) CD40 ligandı / CD40; CD28/B7 ve LFA (lymphocyte function-associated antigen=lenfosit fonksiyonlarıyla ilişkili antijen)-1/ICAM-1 ilişkisi aracılığıyla gerçekleşir ve B hücre aktivasyonu ve IgE sentezi için gerekli rekombinasyonu sağlar. Böylece alerjik inflamasyondaki ikinci basamak, yani sensitizasyon gerçekleşmiş olur. Herhangi bir antijene karşı IgE yapısında spesifik IgE sentezlenmiştir. Th2 hücrelerinden salınan sitokinlerden IL-3, IL-5 ve GM-CSF eozinofiller için önemli büyüme faktörleridir. Bunlar arasında IL-5 spesifik olarak eozinofilleri, kemik iliğinden başlayarak tüm aşamalarda stimüle eder ve eozinofillerin yaşam süresini uzatır, dokuya geçişini artırır ve apoptozisini azaltır (20).

Antijen spesifik IgE molekülleri mast hücresi yüzeyinde yüksek afiniteli reseptörüne (FceRI) bağlandıktan sonra antijen ile ikinci karşılaşmada IgE'ler arası köprüleşme meydana gelir. Antijen sunumunda anahtar rol oynayan dendritik hücrelerin yüzeyinde de FceRI bulunur. Antijene özgü IgE bu reseptörlerin üzerine de tutunur. Böylece ilk sensitizasyon oluştuktan sonra dendritik hücreler IgE aracılığıyla çok düşük antijen konsantrasyonlarında dahi antijeni tanıyabilme ve sunabilme özelliğine kavuşurlar (21,22).

Mast hücresi yüzeyinde IgE'ler arası ikili köprüleşmeler mast hücresinden salınımı başlatmak için yeterli ise de, üçlü agregatlar daha güçlü bir uyarı oluşturur. Köprüleşme sonucu mast hücresinde protein kinazları içeren, enerji ve kalsiyum gerektiren bir sinyal iletimi başlar ve egzozitoz ile mast hücresinden degranülasyon gerçekleşir. Bu immünolojik olaylar ve bazı nonimmünolojik uyarılar mast hücresinden salınımına yol açabilir (23).

Mast hücresinde sentezlenmiş olan bazı mediatörler uyarı öncesi salındığı gibi, bazı mediatörler de uyarı üzerine sentezlenir. Önceden sentezlenmiş mediatörlerin prototipi histamin ve bazı sitokinler, yeni sentezlenen mediatörler ise temel olarak lökotrienler,

platelet aktive edici faktör (PAF) ve Prostaglandin D<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>)'dir. Mast hücresinden salınan bu mediatörler özellikle histamin ve lökotrienler (LTC), erken alerjik reaksiyondan sorumludurlar. Erken alerjik reaksiyon bronşlarda kendini bronkospazmi vazodilatasyon, öden, artmış mukus sekresyonu olarak gösterir. Buna karşılık sitokinler geç faz alerjik yanıtı başlatan mekanizmaları harekete geçirirler. Geç faz alerjik yanıtın sebebi ve astımın kronik karakterine neden olan faktör inflamasyondur (24).

İnflamasyonda başrolü oynayan efektör hücre eozinofillerdir. Ancak eozinofillerin yanı sıra monositler, lenfositler, bazofiller ve nötrofiller de inflamasyonda yer alırlar. Eozinofiller IL-4 ve IL-13 etkisi ile endotel üzerinde ortaya çıkan adezyon molekülleri vasıtasıyla postkapiller endotele göç ederler. Bu adezyon molekülü çiftlerinin eozinofiller için en önemlileri VLA-4 (very late activation antigen)/VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule) ve PSGL-1 (P selectin glycoproteinligand-1)/ P selektin ve bazı durumlarda da L selektindir. Bundan sonraki aşamada RANTES (CCL5), C3a, C5a ve PAF'ın kemoatraktan reseptörler üzerine etkisi ile eozinofil aktivasyonu gerçekleşir. Bu aktivasyon sonucu CD18 LDA-1 (leukocyte function associated molecule)/ ICAM-1 arasındaki ilişki başlar ve eozinofillerin dokuya geçişi sağlanmış olur (25).

Tüm bu mekanizmalar vasıtasıyla astımın kronikleşmesinden sorumlu olan inflamasyon oluşur. Aktive olmuş inflamatuvar hücreler epitel yıkımı, subepitelyal fibrozis, düz kas hipertrofisi, revaskülarizasyon ve goblet hücre hiperplazisine yol açar (26).

Eozinofilden salınan IL-3, IL-5 ve GM-CSF eozinofilopoezisi artırır ve eozinofil yaşamasını uzatırlar; IL-5 kemokinler eotaksin ve RANTES ile birlikte eozinofilin dokuya çekimini ve infiltrasyonunu artırır; TNF- $\alpha$ , IL-1ve IL-4 adezyon moleküllerinin sentezini artırırken IL-4 aynı zamanda IgE sentezini regüle etmeye devam eder. Eozinofil ürünleri arasında en dikkati çekenlerden birisi de sisteinil lökotrienlerdir. Bunlar da glandüler sekresyonu, vasküler permabiliteyi artırır ve bronkokonstriksiyona neden olurlar. Öte yandan yüksek elektrik yükü taşıyan bir grup katyonik protein de ( MBP (Majör Basic Protein); ECP (Eozinofilik Katyonik Protein); EDN (Eozinofil Derived Nörotoksin); EPO (Eozinofil Peroksidaz ) epitelyal hücre ayrılması, glandüler sekresyon artışı, sinir harabiyeti ve serbest radikal harabiyetine neden olur (27).

Astımda eozinofillerin yol açtığı doku harabiyetine katkıda bulunan bir diğer faktör eozinofillerin apoptozisinin inhibisyonudur. Astım ne kadar hafifse apoptatif eozinofil sayısı o kadar fazladır. Astımdaki eozinofil akümülayasyonu yalnızca artmış çekimin bir



sonucu değil, aynı zamanda GM-CSF gibi faktörlere bağlı olarak apoptozisin inhibisyonunun da sonucudur. Apoptozisin inhibisyonunun bir diğer etkisi de apoptozis sonucu makrofajlardan salınan TGF- $\beta$  gibi sitokinlerin antiinflamatuvar etkilerinden dokunun yoksun kalmasıdır (28).

Astım fizyopatolojisi ile ilgili bilgilerin önemli bölümü atopik astımlılarda yapılan çalışmalardan elde edilmiş, buna karşılık nonatopik astımdaki mekanizmalar tam olarak aydınlığa kavuşmamıştır. Ancak gerek immünohistokimyasal ve in-vitro hibridizasyon yöntemiyle bronş mukozası biopsilerinde, gerekse bronko alveoler lavaj (BAL) sıvılarında her iki grupta da IL-4 ve IL-5'in IL-5 $\alpha$ 'nın ve RANTES' in benzer miktarlarda arttığı gösterilmiştir (29).

## **2.5. ASTIMDA PATOGENEZ**

Ekstresek (Kronik hava yolu İnflamasyonu patogenezi) astımda; genetik yatkınlığı olan kişide antijen sunan hücreler (makrofaj, B lenfosit) inhale edilen alerjenle karşılaştıklarında, bu alerjenleri fagosite ederek class II MHC yüzey antijeni aracılığı ile CD4<sup>+</sup> T lenfositlere sunarlar. T lenfositler bu alerjene karşı özel bir duyarlılık kazanarak spesifik T lenfosit alt grup klonlarına dönüşürler. Th2 lenfositler IL4 ve diğer sitokinler aracılığıyla spesifik IgE üretimine yol açarlar. Spesifik IgE'ler mast hücresi, bazofil, eozinofil, makrofaj ve trombositlerdeki spesifik membran reseptörlerine bağlanırlar. Tekrar alerjene maruz kalındığında hücrelerdeki mediatörler ve sitokinler salınır ve bunlar aracılığı ile geç reaksiyonlar ortaya çıkar. Th2 hücreler, salgıladıkları bazı sitokinler ( GM-CSF, IL3, IL5) aracılığıyla eozinofiller başta olmak üzere inflamatuvar hücreleri direkt uyarırlar. Böylece astımdaki kronik inflamasyona ve epitel harabiyetine yol açarlar (30,31).

Özellikle erişkinlerde görülen intrensek astımda ise IgE yüksekliği yoktur. Burada IgE üretimini yönlendiren IL-4'ü sentez etmeyen buna karşılık eozinofilik inflamasyondan sorumlu IL-2, IL-5 gibi sitokinleri yapan bir T lenfosit alt grubunun sorumlu olduğu sanılmaktadır (31,32).

### **2.5.1. Mast Hücreleri ve Bazofiller**

Astım patogenezinde primer efektör hücre olarak tanımlanmaktadır. Kaynağı dalak kemik ve az miktarda da timüstür. Erken astım yanıtında yer alır. Ayrıca sekonder efektör hücreleri de uyararak geç dönem kronik inflamasyondaki reaksiyonlara da yol

açarlar. Mast hücre aktivasyonunda rol oynayan en önemli faktör antijen spesifik IgE'dir. Ayrıca lökotrienler, substans P, eozinofil kaynaklı majör bazik protein (BMP) anaflatoksinler (kompleman 3a, 4a, 5a) gibi birçok nonimmünolojik uyarılar mast hücrelerini degranüle eder (33).

Duyarlılaşmış mast hücre yüzeyindeki iki IgE molekülü bivalan alerjenle köprülendiği zaman bir seri hücre içi biyokimyasal olaylar cereyan eder. Bunun sonucunda granüller içindeki mediatörler hücre içine boşalır (34)

Mast hücre kaynaklı mediatörlerden histamin, PGD<sub>2</sub> ve LTC<sub>4</sub> bronkokonstruksiyon, mukoza ödemi ve mukus sekresyonuna yol açarlar. Alerjenle karşılaştıktan sonraki birkaç dakika içinde başlayıp 2-3 saat süren semptomların ortaya çıkmasında mast hücre kaynaklı bu mediatörler rol oynar. Kronik inflamasyondaki rolleri net olmamakla beraber, özellikle inflamasyonun başlangıcında proinflamatuvar sitokinler aracılığı ile yer aldıkları düşünülmektedir (35).

### **2.5.2. Eozinofiller**

Sitoplazmik tanecikler içeren akyuvarlardır. Eozinofil sayısı tıbbi önem taşıyan iki hastalık tipinde yükselir. Bunlar özellikle nematodların neden olduğu parazit hastalıkları ve astım gibi aşırı duyarlılık hastalıklarıdır (36).

Eozinofillerin bir diğer işlevi, eozinofillerin taneciklerinin ivedi tepkilerinin önemli bir aracı olan histamini yıkan enzim histaminazı içermesi nedeniyle erken aşırı duyarlılık tepkilerinin etkilerini söndürmektir. Bununla beraber eozinofillerin tanecikleri dokuyu yıkabilen ve yangıya neden olabilen lökotrienler ve peroksidazlarında içerir. Taneciklerde solunum epitelyumunu yıkan ve astım patogeneze katkıda bulunan ana bazik protein de vardır (37).

Eozinofiller bakterileri fagosite edebilirler. Ancak bu olay çok zayıftır ve nötropenik hastalarda piyojenik bakteri infeksiyonlarına karşı bir koruma sağlamaya yetmez. Fagositoz yapabilmelerine karşın Th hücrelerine antijen sunmazlar (38).

Eozinofil yapımının uyarılmasında IL-3, IL-5 ve GM-CSF rol alır. Eozinofil, 5 günlük bir farklılaşma döneminden sonra dokuya geçer ve burada 2-6 gün yaşar. Dokularda periferik kandakinden 100 kat daha fazla bulunurlar (39).

Daha önce sentez edilip depolanan enzim ve proteinlere ilave olarak eozinofil uyarıldığında, PGD<sub>2</sub>, PGD<sub>2</sub>α, LTC<sub>4</sub> ve PAF sentezlenerek salınır. Bu mediatörler bronş

düz kas spazmı, mukus hipersekresyonu, mikrovasküler permabilitede artış ve ödeme yol açarak astım patogeneğinde önemli yer tutar. Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), süper oksit ( $O_2^-$ ) ve hidroksil ( $OH^-$ ) konakçı hücelere toksik etki gösterir. TGF- $\alpha$  ve  $\beta$  fibroblastlardan Tip I, III ve V kolojen sentezini arttırarak subepitelyal fibrozise yol açar (40).

Th2 kaynaklı IL-5, eozinofil inflamasyonundan sorumludur. IL-3,5,6, GM-CSF, PAF ve LTC4 eozinofiller için potansiyel kemotaktik mediatörlerdir ve havayollarında eozinofilik inflamasyona yol açarlar (41).

### **2.5.3. Sitokinler ve T Lenfositler**

#### **2.5.3.1. T Hücre Farklılaşması ve İnflamasyon**

Antijen sayısı, antijen sunan hücre özelliği ve sitokin yoğunluğuna göre Th hücreleri Th1 ve Th2 olmak üzere farklı immün yanıt geliştiren iki ayrı alt gruba ayrılır(41).

Th1 hücreler IL-2,  $IFN\gamma$  ve  $TNF\beta$  , Th2 hücreler IL-4, IL-5, IL-8 ve IL-10 salgırlar. Her iki grup hücre de IL-3, GM-CSF,  $TNF-\alpha$  ve IL-13 salgırlar. Ekstresek astım patogeneğinde Th2 hücre grubu önemli rol oynar. İntresek ve mesleki astımda ise bilinmeyen bir T hücre alt grubu etkindir. Th2 hücreler salgıladıkları sitokinler ile IgE üretimi ve eozinofil aktivasyonuna yol açarlar. Th1 ve Th2 hücrelerin yanı sıra her iki grup hücreye ait sitokinleri sentezleyebilen Th0 yardımcı T lenfositler de bulunmaktadır (42).

#### **2.5.3.2. Sitokinler**

Sitokinler, immün ve inflamatuvar olaylara katılan hücrelerin etkinliklerinin artırılması için; uyarılmış lenfositler, monositler ve makrofajlar ile diğer bazı somatik hücreler tarafından sentezlenen 20–30 kD ağırlığına sahip peptit veya glikoprotein yapısında maddelerdir (43).

1957 yılında Isaac ve Lindenmann tarafından ilk sitokin “interferon” keşfedilmiştir. Bunu takiben 1966 Bradley ve Metcalf çalışmalar yapmışlardır. Daha sonra 1975-1979 yıllarında ilk kez interlökin tanımı kullanılmıştır. 1981 yılında sitokinlerin yalnızca lökositler değil diğer hücreler tarafından da sentezlendiği gösterilmiştir (44).

Sitokinler hormonlardan farklı olarak sistemik değil, yakın (hemen çevredeki hücelere) etki gösterirler. Sitokinler hücre membranı üzerinde yoğun olarak eksprese

edilip ekstra selüler matriksteki depolarda toplanırlar. Hedef hücreler üzerindeki yüzey reseptörleri ile kombine olan sitokinler, intraselüler transdüksiyon sinyali ve ikincil mesaj yollarıyla bağlanırlar. Sitokinler, onları üreten hücreler üzerinde otokrin aktivite veya komşu hücreler üzerinde parokrin aktivite gösterirler. Nadiren uzak sitelerdeki hücreler üzerinde hormonal aktivite gösterirler (45).

Sitokinler, vücut savunmasında görevli tüm hücrelerin hareketlerine, gelişmelerine, farklılaşmalarına ve çoğalmalarına etki yaparak bireyin yabancı antijen ve zarar verici etkenlere karşı tepkimelerini düzenlerler (46).

Bronş astımında spesifik immün yanıtın gelişmesinde, hava yollarında inflamatuvar hücrelerin birikmesi ve aktivasyonunda subepitelyal fibrozis gibi yapısal değişikliklerin oluşmasında sitokinler önemli görevler üstlenirler. IL-1, TNF $\alpha$  gibi sitokinler inflamasyonda yardımcı, IL-5 eozinofil farklılaşması, olgunlaşması ve dokuya geçişinde, IL3, GM-CSF, IL-2, IL-8 ve RANTES eozinofil kemotaksisinde önemli roller üstlenirler (47).

IgE yapımını IL-4 ve IL-3 sağlar. IL-5 ve IL-6 ise IgE yapımına yardımcıdır. IFN $\gamma$ , IL-8 ve IL-12 IgE yapımını baskılar (48).

Aktive olmuş T lenfositler tarafından sentezlenen sitokinlere lenfokin, aktive monosit ve makrofajlar tarafından sentezlenenlere monokin ve lökositler arasında iletişimi sağlayan sitokinlere de interlökin denir. Bu sitokinler içerisinde kemotaktik etkiye sahip 50 kadar sitokin ise ayrıca kemokin olarak adlandırılır (49).

#### **2.5.3.2.1. Sitokinlerin Genel Özellikleri (45,50)**

- Doğal ve spesifik immüitenin aktivasyon ve efektör fazı sırasında üretilirler  
İmmün ve yangısal cevabın düzenlenmesine aracılık ederler
- Sitokin sekresyonu oldukça kısa sürede gerçekleşir, 10-15 molar konsantrasyonlarda bile aktiftirler, depolanmazlar
- Birçok sitokin, farklı hücre tipleri tarafından sentezlenebilir. Kendi aralarında agonist ve antogonist etki gösterebilirler
- Diğer polipeptit hormonlarda olduğu gibi hedef hücre üzerindeki özel reseptörlere bağlanarak etkilerini gösterirler
- Otokrin, parokrin ve endokrin etkilere sahiptirler

- Birçok hedef hücrede, hücre bölünmesinin düzenleyicileri olarak görev alırlar
- Antijen spesifik değildirler

#### 2.5.3.2.2. Sitokinlerin Genel Etkileri (51,52)

- Lenfosit hücrelerin ve diğer bazı hücrelerin çoğalmasını ve farklılaşmasını sağlarlar
- İmmün cevabı baskılayarak ya da şiddetlendirerek düzenlerler
- Yangı olayına katılan hücreleri aktive ederek reaksiyon bölgesine çekerler.
- Kemik iliğine etki ederek hematopoietik düzenlemeye katılırlar
- Ateş ve akut faz cevabı oluştururlar Bazı hipofiz hormonlarının sentez ve salınımına neden olurlar
- Antiviral etkinlik gösterirler
- Düşük konsantrasyonlarda ateş, miyalji ve baş ağrısı gibi genel infeksiyon bulgularına, yüksek konsantrasyonlarda ise şok ve ölüme yol açarlar

Sitokinler, biyolojik yanıt düzenleyicileridir ve immün sistem proteinleridir. T hücre immün sistem interaksiyonları ve antikorlar ile koordine ve immün aktivite ile amplifiye olurlar. Doğal katil hücreler, T lenfositler, makrofajlar, Endotel hücreleri, fibroblastlar ve diğer hücreler sitokin salgırlar (53).

Lenfokin 1960'larda makrofaj inhibitör faktörün (MIF) keşfedilmesinden bu yana araştırılmaktadır. 1960'ların sonlarında lenfokinler, duyarlılaştırılmış lenfositlerin spesifik antijenlerle reaksiyona sokulmasıyla tanımlanmışlardır. Lenfosit süpernatantlarında birden fazla sitokin bulunmaktadır. Bu bileşenler hücreler arası immün reaksiyonlardan sorumlu tutulmaktadırlar. IL-2, T hücre büyüme faktörü şeklinde ve TNF, monokin olarak tanımlanmıştır. Son zamanlarda IL-1 olarak tanımlanan monokin, lenfosit aktivasyon faktörlerini içerir. İnterferonlar, homolog veya heterolog virüslerle infekte olan hücrelerin direncine neden olan, virüs infekte hücreler vasıtasıyla şekillenen faktörlerdir. Mitojenlerle aktive edilen T lenfositler vasıtasıyla sentezlenen interferon  $\gamma$ , interferon  $\alpha$  ve interferon  $\beta$  bulunan bölgelerde tespit edilmiştir. CSF hematopoietik hücrelerin farklılaşması ve proliferasyonunu teşvik eder, CSF'ler granülosit veya monosit koloni formasyon yapımını teşvik ederler.

Nonhematopoietik hücrelerin gelişimini kolaylaştıran proteinler genellikle sitokinler içerisine dâhil edilmezler. TNF- $\beta$ , T hücrelerde immünoregülasyonu sağlamasının yanı sıra immünosupresif etkilerden de sorumludur. Ayrıca inflamasyonda önemli roller üstlenir. TNF-1  $\beta$  ve eozinofil migrasyonunda görev alır (54,55).

### **2.5.3.2.3. Sitokin Reseptör İlişkisi**

Sitokinler için temel prensip onların çok fazla ve pleotrofik etkilerinin olmasıdır. Sitokinler sadece hücrelerin bir tipi üzerinde değil pek çok doku ve hücre üzerinde de geniş spektrumlu biyolojik etkilere sahiptirler. Çeşitli sitokinler benzer etkiler yapan aynı hücre tipleri ile interaksiyon kurabilir (56).

Sitokin reseptörler genellikle subünite ve sınıf spesifik transduser subüniteleri bağlayan spesifik ligantlarla multi peptid komplekslerini komprese ederler (57).

### **2.5.3.3. Kemokinler**

Kemotaktik sitokinlerin küçük formları olarak bilinen kemokinler, 1992 yılında Budapeşte’de toplanan uluslararası immünoloji kongresinden sonra ilk kez isimlendirilmeye başlanmıştır. Uzun süren tartışmalar sonunda kemotaktik aktiviteye sahip 50 civarında kemokin belirlenmiştir. Kemokinler sitokinlere benzer şekilde inflamasyon ve immünite mediatörlerinin oluşturduğu büyük bir familyadır. Sitokinler gibi kemokinlerde lökosit ve doku hücreleri tarafından proteinlerin indüksiyonu ve parokrin veya otokrin bezlerin lokal etkileri sonucu salınırlar. Buna rağmen kemokinler sitokinlerden çok daha küçüktürler ve lökosit atraktanlar için tipik olan heptahelikal G proteinlerin reseptör birlikteliği vasıtasıyla aktivite gösterirler. Ayrıca aktiviteleri ve yapısal hücre reseptörleriyle diğer sitokinlerden farklıdır (58,59).

#### **2.5.3.3.1. Kemokinlerin Yapısal Özellikleri ve İsimlendirilmeleri**

Kemokinler 6-14 kD ağırlığında, yapısal homoloji gösteren ve çoğunlukla katyonik polipeptitler bulunduran moleküllerdir. Kemokinler 70-130 amino asit içerirler. Bu proteinlerin yaklaşık %80’i matür formda 66 ila 78 amino asit içerir. Geri kalan proteinler C terminal bölgesinin uzantılarına veya kor proteininin aminoasit dizilimiyle büyük bir hal alırlar. Salınan proteinler salınmadan önce bağlanan 20-25 amino asidin öncü sekansları ile sentezlenirler (60).

Kemokin süperfamilyası N-terminal bölgesindeki sisteinlerin düzenlenişine göre yani ilk sistein arasına giren amino asit (X) ve N-terminal bölgesindeki sistein sayısına göre

CXC ( $\alpha$  =alfa), CC ( $\beta$ =beta), C ( $\gamma$ =gama) ve CX<sub>3</sub>C ( $\delta$ =delta) şeklinde 4 familyaya ayrılırlar. CXC kemokinler olarak adlandırılan  $\alpha$  subfamilyası ilk iki sistein bölgesindeki bir amino asitle seçicilik kazanır. Bu grup glutamin-lösin-arjinin motifinden hemen önceki ilk sistein bölgesinin varlığı ya da yokluğuna göre grup içi adlar alır. Çoğunlukla CC kemokinler olarak adlandırılan  $\beta$  subfamilyasında iki sistein arasına amino asit girmez.  $\gamma$  süperfamilyasının üyeleri ilk ve üçüncü sisteinini kaybetmişlerdir. Bilinen tek  $\delta$  süperfamilya üyesi Fraktalkinde (CX<sub>3</sub>CL1) ilk iki sistein arasına giren üç amino asit bulunur (58,59,61).

Genel olarak farklı sınıf kemokin üyeleri farklı lökositleri aktive ederler. CC kemokinler mononükleer hücreler, eozinofiller veya bazofillerin bir veya birçok sınıfına, CXC kemokinler nötrofillere ve lenfositlere, C kemokin T hücelere ve CX<sub>3</sub>C kemokin natürel katil hücelere, monositlere ve T hücelere atak eder (61,62).

Günümüzde, 28 CC kemokin, 16 CXC kemokin, 2 C kemokin ve 1 tane de CX<sub>3</sub>C kemokin üyesi bilinmektedir. Bunlardan özellikle CC ve CXC kemokin familyalarının üyeleri hastalıkların araştırılması ve modellendirilmesi sürecinde dikkatleri üzerlerine çekmektedirler (63).

CXC ve CC kemokinler 4 tane sistein bulundururlar. Bu sisteinler (cys1- cys3 ve cys2-cys4) arasında iki disülfid bağı bulunur. Ayrıca karakteristik olarak üç boyutlu katlanmalar yer alır. Disülfidler biyolojik aktivite ve reseptör tanımlanmasında esansiyal rolü üstlenirler. CXC kemokinlerin ekspresyonu IL-1 ve TNF-  $\alpha$  artışını sağlar. Buna karşın CC kemokinlerin ekspresyonu monosit kemoatraktan protein-1'in (MCP-1) artışını teşvik eder (64).

CC kemokinler T lenfositler tarafından salınırlar ve endotelial hücre yüzeylerinde her zaman aril sülfat proteoglikanlarla kombine olarak bulunurlar. Adezyon molekülleri vasıtasıyla devreye giren lökositlerin kemotaksisini aktive ederler (65).

#### **2.5.3.3.2. Kemokinlerin Reseptör Bağlaması ve Aktivasyonu**

Bilinen tüm kemokinler *Bordetella pertussis* toksinine duyarlı transmembranı 7 kez dolanan G proteine bağlı reseptörlere bağlanırlar. Hücre yüzeyindeki uyumlu reseptörler aracılığıyla oluşan lökosit aktivitesi partiküler kemokinler vasıtasıyla sağlanır. Kemokin sistemin spesivitesi ve kompleksivitesi reseptörlerin ekspresyonu ile regüle edilir. Buna rağmen CC ve CXC kemokinler iki veya daha çok reseptörle bağlanabilirler. Kemokin

reseptörlerde birden fazla ligantla bağlanabilirler. Kemokinlerin reseptörleri ile interaksyonları birebirdir (66).

Kemokin reseptörler adlandırılırken ilgili familya köküne reseptör sözcüğünü temsilen R harfi, ilgili familyada bulunan ligantlar içinse familya adının sonuna ligant sözcüğü yerine kısaca L eklenir. Örneğin CC kemokinlerden CCL28 ligantının reseptörleri CCR3 ve CCR10'dur (67).

Birbirlerine benzemelerine karşın CC kemokinler ve CXC kemokinlerin yapısal dimer farklılığı farklı reseptörlerle bağ oluşturmalarını sağlar (68).

CC kemokinlerin reseptörleri ile aktivasyon kurmasını sağlayan iki majör site vardır. Bunlardan birincisi amino terminal bölge, ikincisi ise sisteinlerden sonra yer alan konformasyonel düğümlerdir. CC ve CXC kemokinler, sisteinlerin yanı sıra disülfid bağlarıyla daha da kapalı yapı kazanırlar. Reseptörler düğüm bölgeleri ile bağlanırlar. Bu interaksyon, aktive edilen reseptörün bulunduğu amino terminal tetikleyici bölgede yer almaktadır ve kemokinin mobilitesini sağlar. Dokulardaki kemokinler C terminal  $\alpha$ -heliks ve kor bölgesinin temel amino asitleri ile interaksyon kurarlar. Böyle kemokinler ekstraselüler matrikste hücrelerin yüzeylerindeki asidik makro moleküllere (Glikoz aminoglikanlara) bağlanabilirler. Bunun sonucunda kemokinler yapıldıkları ve salındıkları zaman sitelere hapsolmuş vaziyette kalırlar ve tüm kemotaktik aktivitelerini kaybederler. Ancak kemokinler reseptörleriyle karşılaştıklarında onlara bağlanır ve ligant reseptör birlikteliğiyle aktivite kazanırlar (69).

### **2.5.3.3.3. CC Kemokinlerin Temel Fonksiyonları**

CC kemokinler, kemotaksis ve lökosit migrasyonunda stimüle edici roller üstlenirler. Akut inflamasyondan kronik inflamasyona geçişte stromal ve immün hücreler arasındaki proseslerde önemli roller üstlenirler (70).

Kemokinler aktinin polimerizasyonu ve depolimerizasyonunda görev alırlar. Hücresel şekillerdeki değişiklikleri hızla ve aktif olarak arttırırlar. Emigrasyonla hücrelere yapışan lökositlere geçen integrinlerin aktivasyonu ve up-regülasyonundan da sorumludurlar. Diğer karakteristik etkileri lipitlerin yapımı, eozinofillerden sitotoksik proteinlerin ve bazofillerden histaminin yapımıdır. Nötrofiller, monositler CD8<sup>+</sup>T lenfositler ve nötral katil hücrelerden granüllerin salınımını da teşvik ederler (71).



CC kemokinler, fagositik ve granüler lökositler ve süper oksit anyonlarının jenerasyonu, integrinin aktivasyonu ve direkt hücre migrasyonu vasıtasıyla kemoatraktan yanıtların oluşmasında, mikroorganizmaların istilasına karşı savunmada, homeostaziste, hücre gelişiminde, lökosit işlevlerinde, angiogeneziste, inflamasyonda, tümöreneziste, metaztaziste, up-regülasyonda, selektin/integrin lökosit aktivasyonunda, otoimmün hastalıklar ve havayolu hastalıklarında çeşitli görevler üstlenirler (72).

#### **2.5.3.3.4. Lökosit Adaptasyonu ve Migrasyonunda CC Kemokinlerin Roller**

Kan damarlarının lümen adezyonu, transendotelyal migrasyonu ve lökositlerin daha sonraki kemotaksisi; kemokinler ve adezyon moleküllerinin hücrel etkileşimleri vasıtasıyla kontrol edilen son derece kompleks mekanizmalar aracılığıyla gerçekleştirilir. Tüm bu süreçler sinyal mekanizmalarıyla ilişkilidir (73).

Kritik adeziv bağların yok olması, transendotelyal lökosit migrasyonunu engellerken, partiküler endotelyal bariyere geçebilecek lökositlerin lokasyonunu sağlayan CC kemokinleri aktive etmektedir. Kemokinler ve reseptörleri lökosit ekstrasvazasyonunun kontrolünde de görevler alırlar. Örneğin CC kemokin sunumu için ikincil lenfoit dokularda reseptörler ile T ve B hücreler periferik dokulara toplanmazlar onun yerine lenfoit nodlar, peyer düğümleri ve dalak üzerinden resirkülasyona yönelmektedirler. Buna kontrast olarak inflammatör kemokinlerin reseptörlerini taşıyan efektör lökositler inflamasyon ve hastalıkların bulunduğu sitelerde etkilidirler. Ekstrasvaze olan lökositler kemokin gradiyentine maruz kaldıkları zaman kemotaksis başlar. Hücre migrasyon mekanizmasının komponentlerinin polarize edilerek dağıtımı, kemokin bağlayan reseptörlerin (CKR) bulunması, sitoskeleton motor proteinleri ve adezyon molekülleri direkt olarak migrasyona neden olmaktadır (74,75).

Çeşitli kemokin konsantrasyonlarında lökosit migrasyonu gerçekleşir. Alternatif gradiyent olduğu takdirde daha fazla lökositin lokalizasyonuna gözlenmiştir. Bu düzey CCL28 için bağırsak hücrelerinde  $10^{-6}$  olarak bulunmuştur (DX). Yüksek CC kemokin konsantrasyonu, kemorepulsion artışına da neden olur. Lökosit ekstrasvazasyonu ve kemotaksis immünitede merkezi rolü üstlenir. Bu suretle CC kemokinler hematopoiez, immün yanıt ve immün denetim gibi farklı proseslerin işleyişine katkıda bulunmaktadır. İnflamatör CC kemokinler inflammatör sitelerde sunulurlar. Ayrıca hücre, doku ve lökosit aktive edilmesi vasıtasıyla yapılırlar. Effektör lökositlerin toplanmasını sağlarlar. Böylece inflammatör imfiltratların kompozisyonunu belirlerler.

Pek çok inflamator kemokin geniş hedef hücre seçiciliğine ve doğal immün sistem hücreleri üzerinde aktif etkiye sahiptir. CC Kemokinler adaptif immün yanıt esnasında T-hücre relokalizasyonunu sağlarlar (76).

#### **2.5.3.3.5. İnflamasyon, Alerjik Hastalıklar ve Astım Sürecinde CC Kemokinlerin Rollerini**

Astımla birlikte akümüle olan eozinofillerin degranülasyonu ve aktivasyonunun sağlanmasında CC kemokinler de görev yapar. Bunun sonucunda eozinofiller hasarlı dokulara göç ederler (77).

CC kemokinler, lökositler için önemli kimyasal çekiciler, hücresele aktive edici faktörler ve histamin salgılatıcı faktörlerdir. Bu özellikler, onları alerjik inflamasyonun patogenezinde önemli kılmaktadır (78).

CC kemokin gradiyentinin artışı akciğerlerde antijen spesifik CD4<sup>+</sup>T hücrelerinin toplanmasını teşvik eder (79).

Multiple sitokin ve kemokinlerin koordine edilerek salınımıyla alerjik inflamasyon esnasında havayollarındaki lökositlerin toplanması sağlanır. Bu prosesler farklı alerjik yanıtlar, reseptör kompleksinin oluşturulması, Multiple ligantların hazır bulunuşu ve kemokinlerin site spesifik yapımı vasıtasıyla kontrol edilir. CC kemokin reseptörlerden bazıları alerjik havayolu hastalıklarında devreye girmektedir (80,81).

CC kemokinlerin eotaksin alt ailesi ve onun reseptörü olan CCR3, alerjik yanıtın önemli bir regülâtörü olarak ortaya çıkmıştır. Eotaksin 1 geninin eksik olduğu astımlı sıçanlarda, akciğerin geç faz yanıtının erken döneminde eozinofillerin toplanmasının bozulduğu görülmüştür. Ayrıca, RANTES, makrofaj inflamatuvar protein (MIP)-1a, MCP-1, MCP-5 ve eotaksin-1'e karşı nötralizan antikorların kullanımıyla alerjene indüklenmiş pulmoner infiltrasyon ve aktif hücre reaksiyonu (AHR) sırasında inflamatuvar hücrelerin oluşumu ve bölgesel lokalizasyonundaki önemi gösterilmiştir (82).

Eotaksin 1'in nötralizasyonu, alerjene maruz kalındığında görülen eozinofil infiltrasyonu ve AHR' yi geçici olarak azaltmaktadır. Buna karşın, MCP-5'in nötralizasyonu, akciğer interstisyunu içindeki eozinofil trafiğini değiştirerek AHR'yı durdurmaktadır. Alerjenle yapılan endobronşiyal uyarı, bronko alveoler lavaj sıvısındaki kemokin düzeyinde artmaya neden olmaktadır. Astım hastalarının lavaj

sıvısının kemoatraktan aktivitesi ise RANTES, MCP-3, MCP-4 ve eotaksin-1'e karşı antikorlar ile kısmen inhibe edilmektedir (83)

Yeni bir araştırma, kutanöz T hücre atraksiyonu yapan kemokin CTACK/CCL27 ve onun reseptörü CCR10'un, CLA (conjugated linoleic acid) içeren T hücrelerinin deriye göçünde özel bir rol oynadığını göstermiştir, CTACK en fazla deride ekspresyon göstermekte ve bellek lenfositlerin dokuya özgü bir subpopulasyonunu özel olarak cezp etmektedir. Aynı zamanda, sıçanda ALP olarak bildirilmiştir. Aynı kemokin için "eskine" ve "ILC" terimleri de kullanılmaktadır Yeni sistematik kemokin sınıflanmasında CCL27 olarak isimlendirilmektedir (84,85).

İnflamatuvar hücrelerin transendotelial migrasyonunu takiben kemotaksisin ikinci basamağı alerjik inflamatuvar doku içinde gerçekleşir Çalışmalar alerjik inflamasyonda rol oynayan CC kemokin ve/veya CC kemokin reseptörlerinin hedef alınmasının tedavi stratejisinde umut verici olabileceğini göstermektedir (86,87).

#### **2.5.3.4. CCL28**

CCL28'e MEC ( Mucosa associated epithelial cell) de denilmektedir. Ayrıca CCK1 ismi de verilmiştir. Fakat numenclaturede oluşan karışıklıklar nedeniyle CCL28 ismi ön plana çıkarılmıştır (67,88).

İnsan CCL28'i son zamanlarda tanımlanan CC kemokinlerin en yenilerindedir. Homologları ilk olarak fare böbrek cDNA'sından izole edilmiştir. Matür protein 105 aa, 6 sistein bölgesi ve uzunca bir C-terminal segmenti taşır. Fare ve insan amino asitleri %63 oranında benzerlik gösterir. CCL27 ile %40 homoloji gösterir. İlk araştırmalarda CCL27 ve CCL28 molekülleri birbirlerine karıştırılmıştır (88,89).

İnsan CCL28'i 5. kromozom üzerinde sentezlenir. Bu kromozomda büyük intronlarla birlikte 4 tanede ekson yer alır. Kromozom 5 üzerine lokalize olmuş CCL28 genleri putatif 21 amino asit ve sinyal zinciri ile 127 amino asit prokürsör protein kodlayan cDNA ile işlevsellik kazanır. Böylece sinyal zinciri 105 amino asitli motor protein jenerasyonundan ayrılır (90).

İnsan murin CCL28'i egzokrin bezler, peyer düğümleri, kolon, rektum, göğüs tonsiller, apandis, intestinal sistem, meme bezleri ve trakeadaki mukozal ve epitelyal yüzeylerde tespit edilmiştir. Ayrıca fare tükürük ve parotit bezlerinde ve assinar epitelyal

hücrelerde çok yüksek düzeyde CCL28 tespit edilmiştir. CCL28 ekspresyonu *in vitro* ortamda bronşlardaki epitelyal hücreler tarafından gerçekleştirilir (88,90).

CCL28'in geniş spektrumlu antimikrobiyal aktivitenin neden olduğu mukozal immünitede, T hücrelerin toplanmasında ve eozinofil migrasyonunda görev aldığı düşünülmektedir (91).

CCL28 histatince zengin kandidiasidal peptit histatin-5 ile benzerlik göstermektedir. İnsan ve fare CCL28'inin *Candida albicans*, gram negatif ve gram pozitif bakteriler için potansiyel ve antimikrobiyal ajan olduğu bilinmektedir. Pek çok diğer antimikrobiyal peptitler gibi CCL28'inde hedef mikroorganizmalarda membranın geçirgenliğini hızla arttırıcı ve yüksek tuz konsantrasyonunda anti mikrobiyal aktivite oluşturduğu ortaya koyulmuştur (90,91).

*E. coli* vasıtasıyla yapılan çalışmalarda CCL28'in iki reseptörü tespit edilmiştir. Bunlar CCR3 ve CCR10'dur. CCL28 sadece atak eden hücrelerden değil CCR10 ve CCR3 eksprese eden mukozal dokulardan da salınır (92).

CCL28, CCR10 transfektantlarında kalsiyum mobilizasyonunu ortaya çıkarır. CCL28, bu transfektantlarda CCL27'nin neden olduğu kalsiyum akışını duyarsızlaştırır. Bu sonuçlar CCL28 ve CCL27'nin CCR10 reseptörüyle birlikte reaksiyon gösterdiğini belirtmektedir. Çok fazla benzerlik göstermeleri ve CCR10 için ligant olmalarına karşın CCL27 ve CCL28 arasındaki farklar. Tablo 2.5.3.4.1 de görülmektedir (67,88,92):

**Tablo 2.5.3.4.1.:** Homolojik benzerlik gösteren CCL27 ve CCL28'in buldukları ve eksprese edildikleri yerler arasında temel farklar

DOKU	ÖZELLİKLER
Deri	Deride normal olarak CCL27 bulunur ancak CCL28 bulunmaz. İnflamasyonda CCL27 up-regüle edilir. ( birkaç normal CD <sup>4</sup> T hücresi üzerindeki CCR10; kandaki CLA <sup>+</sup> CD <sup>4</sup> T hücreleri üzerinde seçim yapar.)
Gastro endotelyal sistem	CCL28 meme bezleri ve tükürük bezlerinde yüksek düzeyde, intestinal sistem ve kolondaki epitelyal hücrelerde de belli düzeylerde bulunmaktadır. Ancak CCL27 bu dokularda ve hücrelerde bulunmaz. ( normal bağırsaktaki T hücrelerinin üzerinde (<5%) CCR10 bulunur.)
Respiratör sistem	Trakeanın epitelyal hücrelerinde CCL28 bulunmasına karşın CCL27 bulunmaz.

#### 2.5.3.4.2. Eozinofiller Üzerinde CCL28'in Fonksiyonel Roller

CCL28 insan eozinofilleri için kemoatraktan olarak tanımlanmıştır (93).

CCL28, CCR3 antikoru vasıtasıyla azalan eozinofillerin preinkübasyonu ile hücrelerden eozinofil peroksidaz salınımında artışa neden olmaktadır. Eozinofillerden izole edilen CCL28'ler CCR3 ile bağlanınca fonksiyonel hale gelirler. CCL28 bulunması ve fura-2 yüklü eozinofillerde kalsiyum mobilizasyonu eotaksinin neden olduğu kalsiyum akışını tamamen bloke edebilir. CCR3'ün Eozinofillerle birlikte olmaması durumunda eozinofillerin primer fonksiyonu üzerinde nadiren CCR10 etkili olur (94).

#### **2.5.4.3.3. İnflamasyon, Alerjik Hastalıklar ve Astım Sürecinde CCL28'in rolü**

Astım etiyojisinde inflamasyonun da önemi vardır astım sürecinde IL-1  $\beta$  ve TNF- $\alpha$  ekspresyonundaki artışın yüksek buna karşın CCL28 ekspresyonundaki artışın düşük, düzeyde olduğunu gösterilmiştir. *İn vitro* ortamda havayolu epitelyum hücrelerindeki CCL28 ekspresyonunun IL-1  $\beta$  ve TNF- $\alpha$  vasıtasıyla arttırıldığı bildirilmiştir (92).

A549 hücrelerinde NF $\kappa$ B (Nuclear Factor Kappa B) fosforilasyonunun IL-1  $\beta$  ve TNF- $\alpha$ 'nın stimülasyonuna neden olduğu ayrıca IL-1  $\beta$  ve TNF- $\alpha$ 'nın redüksiyonu ile NF $\kappa$ B'nin CCL28 ekspresyonuna neden olduğu gösterilmiştir. CCL28 ileri derecede mikrobiyal hastalıklarda ve havayolu imflamasyonlarında rol oynamakla birlikte NF $\kappa$ B bağımlı mekanizmalar yoluyla astım patolojisinde artışa neden olmaktadır (95).

CCR3'e bağlanan 11 kemokin vardır. Bunlardan ikisi eotaksin (CCL11) ve CCL28'dir CCL11 ve CCL28 yapımı arasında temporal akrabalık vardır. Ancak CCL11'in eozinofiller üzerindeki etkisi çok azdır. CCR3 ligantlarından en son tanımlananı ilk aşamada karakterize edilemeyen CCL28'dir. Bununla birlikte CCR3 ligantlarından olan CCL28 peribronşiyal bölgelere migrasyona katkıda bulunur (92).

CCL28, CCR10 için orijinal ve epitelyal hücre bağımlı liganttır. Astım hastalarında CCR10 ve CCR3 artışı olmaktadır (92).

CCR10 sıklıkla dermal fibroblastlar, dermal mikrovaskular endotelyal hücreler ve Th2 lenfositlerin üzerinde bulunur. CCR3 eozinofiller, bazofiller, mast hücreleri, T lenfositler, dendritik hücreler ve mezenşiyal hücrelerde eksprese edilirler (90,96).

CCL28 anti serumlarıyla muamele edilen farelerde peribronşiyal inflamasyonun redüksiyonla sonuçlandığı ve partiküllerin neden olduğu peribronşiyal eozinofil akümülyasyonunda artış gözlenmiştir. Burada eozinofillerin toplanmasında CCL28'in önemli rol oynadığı ileri sürülmüştür. *İn vitro* ortamda da aktive edilmiş eozinofiller üzerinde CCL28 gösterilmiştir (90,91,97).

CCR3 inhibisyonu neticesinde alerjik astmatik yanıt esnasında eozinofil akümülyasyonunda azalma gözlenmiştir (97).

CCL28 havayolu yanıtındaki hiper reaksiyonu ve peribronşiyal eozinofil toplanmasını modüle edebilmektedir (98).

CCL28 anti serumlarıyla muamele edilen fareler ve kontrol fareleri üzerinde yapılan araştırmalarda LTF4 artışı gözlenmiştir (67,98).

CCL28 ayrıca lenfositler içinde kemoatraktandır. Ancak bu konuda yeterli çalışma henüz yapılmamıştır. Bunun dışında CCL28 IgA (immün globulin A) ile birlikte immün yanıtın oluşmasında da görev alır (67,92).

## **2.6. DİĞER PARAMETRELER**

### **2.6.1. C-Reaktif Protein (CRP)**

CRP ilk kez 1930 yılında Tillet ve Francis tarafından pnömonili hastalarda pnömokokların karbonhidrat maddelerine karşı oluşmuş bir protein “Karbonhidrat Reseptör Protein” CRP olarak değerlendirilmiş; daha sonraları doku hasarıyla oluşan diğer pek çok patolojik durumda yüksek düzeylerde (2 mg/dl üstü ) oluştuğu gösterilmiştir (99).

CRP inflamasyonun akut faz ve cevabıyla izlenmesinde kullanılabilen başlıca akut faz proteinlerindedir. CRP hepatositler tarafından yapılan, 5 subüniteden oluşan 105 kD bir polipeptit (pentraksin)’dir. TNF, IL-1, IL-6 ve prostaglandinler CRP yapımını stimüle ederler (99).

CRP’nin biyolojik etkinliği, kompleman sisteminin aktivasyonunu, opsonin etkisi, bazı bakterilerde kalsiyum bağımlı membran hasarı, pro-inflamatuvar sitokin ,indüksiyonu, L-selektin ekspresyonunun inhibisyonu ile endotele lökosit adezyonunun önlenmesi IL-I antagonistlerinin stimülasyonu olarak bilinmektedir (100).

CRP, rutin laboratuarda doku hasarını gösteren duyarlı kalitatif ve kantitatif test olarak yaygın biçimde kullanılmaktadır. Bu test non-spesifiktir; doku hasarının oluş nedenini ve hastalığın etiolojisini belirlemez. Ancak ciddi enfeksiyonların oldukça güvenilir bir indikatörüdür. CRP doku hasarıyla giden bazı hastalıklarda da yeterli düzeyde yükselme göstermeyebilir. Bununla birlikte test negatif iken genelde doku hasarının oluşmasından 4-5 saat sonra pozitifleşmeye başlar. Hasarın azalmasından sonra hızla azalarak

negatifleşir. Sistemik bakteriyel enfeksiyonda CRP duyarlılığı %89, özgüllüğü %77 olarak tespit edilmiştir (100).

CRP'nin konak immün savunmada rol oynadığı kabul edilmekle birlikte uzun süren ve sık tekrarlayan yüksek CRP düzeylerinin bazı zararlı etkileri de son yıllarda anlaşılmıştır. CRP komplemanı aktive ederek mevcut inflamasyonun artmasına ve makrofajlardaki doku faktörünü arttırarak trombotik olaylara zemin oluşturabilmektedir (101).

### **2.6.2. IgE**

IgE, Ani (Anafilaktik ) aşırı duyarlılığa aracılık etmesi ve parazitlere karşı konak savunmasına katılması nedeniyle tıbbi önem taşır (102).

IgE'nin Fc bölgesi mast hücreler ve bazofillerin yüzeyine bağlanır. Bağlı IgE, antijen (alerjen) için bir almaç görevi yapar ve bu antijen-antikor karması aracılarının salınması üzerinden giderek, ani (anafilaktik) tipe ait alerjik yanıtları tetikler. IgE normal serumda iz nitelikte (yaklaşık %0.004) bulunursa da alerjik tepkicilik bulunan kişilerde bunun niceliği büyük çapta artar ve dış salgılarda IgE belirebilir. IgE kompleman fiksasyonu yapmaz ve plasentayı aşmaz (103).

Deri testlerinin zorluğu ve anafilaksiye neden olabilmesi açısından serum spesifik IgE değerlerinin incelenmesi yerine total IgE düzeyinin incelenmesi atopik hastalıkların tanısında faydalı görülmüştür. Ancak yaş, mevsim, coğrafi yöre ve genetik özelliklere bağlı olarak alerjik olmayan bazı hastalarda total IgE değerlerinin değişebileceği gösterilmiştir (102,103).

### **2.6.3. Atopi**

Atopi: düşük dozlarda alerjenlere, sıklıkla proteinlere, karşı kişisel veya ailesel IgE antikor üretme eğiliminin varlığı ve bunun sonucunda astım, rinokonjonktivit veya alerjik egzama/dermatit sendromu gibi tipik semptomların ortaya çıkmasıdır. Atopi ve atopik terimleri sadece bu klinik özelliği ve yatkınlığı belirtmek amacıyla kullanılır. Atopi terimi bir IgE aracılıklı duyarlılık gösterilinceye kadar dikkatle kullanılmalıdır. Tipik bir atopik bireydeki alerjik semptomlar, atopik astım örneğinde olduğu gibi, atopik sıfatıyla anılır. Bununla beraber IgE aracılıklı astım genelde atopik astım olarak isimlendirilmemelidir. Ne pozitif bir epidermal deri testi ne de IgE antikor varlığı kendi başına atopik bünye işaretçisi olarak varsayılmamalıdır (104).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya, Erciyes Üniversitesi Pediatri polikliniğinde astım tanısı almış, 3-14 yaş grubu 53 hasta çocuk ve kontrol grubu olarak 16 sağlıklı çocuktan alınan serum örnekleri dahil edilmiştir. Ayrıca hasta ve sağlıklı çocukların yaş, kilo, boy, ailede alerji hikayeleri kaydedilmiştir.

Bu çalışmada, serum örneklerinde CCL28 düzeyini belirlemek için, Quantikine Human CCL28 Immunassay ELISA kiti kullanılmıştır.

Bu kitin içerisinde:

- 1) 96 kuyucuklu polietilen mikroplyt ( yatayda 8 dikeyde 12 kuyucuk ) fare monoklonal antikor CCL28 ile kaplanmış
- 2) 21 ml konjugat : Koruyucu ile muhafaza edilen radish-peroksidazına konjuge edilmiş CCL28 poliklonal antikor
- 3) 10 ml Standart solüsyon: Liyofilize edilmiş, koruyucu ile muhafaza edilir ve tamponla çözülerek kullanılır
- 4) 11 ml assay dilüent RD1-15: koruyucu ile muhafaza edilen tamponlanmış temel protein
- 5) 2 şişe kalibratör dilüent RD6X: koruyucu ile muhafaza edilen hayvan serumu ( 21 ml / şişe )



- 6) 11 ml Yıkama tampon solüsyonu: koruyucu ile muhafaza edilen tamponlanmış surfaktanın 25 kat konsantre edilmiş solüsyonu
- 7) Renk ayıraçları:
- Renk ayıraç A : 5 ml stabilize edilmiş H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>
  - Renk ayıraç B : 5 ml stabilize edilmiş kromojen (tetra metil benzidin)
- 8) 6ml stop solüsyon : 2N sülfirik asit

### **3.1. KULLANILAN YARDIMCI ARAÇLAR**

- 1) 10-100 µl'lik otomatik pipet
- 2) 100-1000 µl'lik otomatik pipet
- 3) 10-200 µl'lik multikanal pipet
- 4 Yıkayıcı: Pastour LP 3,5 cihazı
- 5) Okuyucu: Tecon SLT SPECTRA cihazı
- 6) Shaker: TEMPA 2 DESAGA cihazı

### **3.2. ELISA YÖNTEMİ İLE CCL28 DÜZEYİNİN BELİRLENMESİ**

#### **3.2.1. Örneklerin Hazırlanması**

Örnekler serum seperatif tüplere (SST) alınmış ve 30 dakika bekleyerek serumu ayırt edilmiştir. Hemolizli ve ikterik örnekler çalışmaya dahil edilmemiştir. SST'deki örnekler 1000rpm'de 15 dakika santrfüj edilmiştir. Santrfüj sonrası tüpün üst kısmında yer alan serumlar pipet yardımıyla steril polietilen tüplere aktarılarak -70°C'da muhafaza edilmiştir. Teste başlamadan önce bütün ayıraçlar ve serumlar oda ısısına getirilmiştir.

#### **3.2.2. Kalibratörün Hazırlanması**

Kalibratör solüsyonundan 450 µl alınarak temiz steril bir tüpe aktarılmıştır. Bu tüp 0 kalibratör olarak kullanılmıştır. Daha sonra 7 ayrı steril tüpe 1000'er µl distile su koyulmuştur. Tüplere sırasıyla dilüsyon miktarını belirlemek amacıyla 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.2, 15.6 sayıları yazılmıştır. Konjugat solüsyonundan 250 µl pipetle alınarak üzerinde 1000 yazan tüpe ilave edilmiştir. Bu tüpten yine pipetle 250 µl alınarak üzerinde 500 yazan tüpe ilave edilmiştir. Bu pipetasyon işlemi üzerinde 31.2 yazan tüpten pipetle 250 µl alınıp üzerinde 15.6 yazan tüpe ilave edilinceye dek

sürdürülmüştür. Bu dilüsyon işlemi sonrasında 0 solüsyonda dahil olmak üzere 8 kalibratör tüp oluşturulmuştur.

### 3.2.3. Test Prosedürü

- 1) Tüm reagentler, çalışılan standartlar, kontroller ve örneklerin oda ısısında pozisyonları belirlenmiştir.
- 2) Standart solüsyondan ve hazırlanmış örnekten 100'er µl alınarak kuyucuklara dağıtılmıştır.
- 3) Pleytin üzeri strip'e kapatılmıştır. 500 rpm'de 1 saat shaker üzerinde bekletilmiştir.
- 4) Örnekler otomatik yıkayıcı ile 4'er kez yıkanmıştır.
- 5) Her bir kuyucuğa konjugattan 200 µl koyulmuştur.
- 6) Oda sıcaklığında shaker üzerinde 3 saat inkübe edilmiştir.
- 7) Örnekler tekrar otomatik yıkayıcı ile 4'er kez yıkanmıştır.
- 8) Her bir kuyucuğa 200 µl substrat solüsyonundan eklenmiştir.
- 9) Işıktan korunarak oda ısısında 30 dakika inkübe edilmiştir.
- 10) Her bir kuyucuğa 50 µl stop solüsyonundan eklenmiştir.
- 11) 30 dakika içerisinde 450 nm'de okunmuştur.

CCL28 için duyarlılık sınırı 0,1-1000 absorbans değeri aralığındadır.

Spektrofotometrede absorbans değerleri okunduktan sonra kalibratör değerleri semilogaritmik grafik kağıdına yerleştirilmiştir. Bu grafikte x eksenini absorbans değerlerini y eksenini ise cihazın okuduğu değerleri göstermektedir. Her bir örneğe karşılık gelen CCL28 absorbans değeri pg/ml cinsinden okunarak kalibrasyon eğrisinde değerlendirme yapılmıştır.

## 3.3. DİĞER ANALİZLER

### 3.3.1. CRP Analizi

CRP analizi, nefelometri yöntemiyle DADE REHRING cihazı kullanılarak yapılmıştır. Minimum değer aralığı <3.13 (mg/l) olarak belirlenmiş, bu değer üzerindeki veriler pozitif kabul edilmiştir.

### 3.3.2. Eozinofil Düzeyinin Belirlenmesi

Kan örnekleri CBC ( Complete Blood Count ) tüplerine alınarak otomatik hematoloji analiz cihazı ( Sigma XT 2000, Roche Diagnostics) ile analiz edilmiştir.

### **3.4.3. Total IgE ve Spesifik IgE Düzeyinin Belirlenmesi**

İmmün Floresan analiz (IFA) yöntemiyle PHARMACIA UniCAP 100 cihazı kullanılarak analiz edilmiştir.

### **3.4. İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME**

İstatistiksel değerlendirmeler, SPSS/PC (version 10.0) paket programı kullanılarak yapılmıştır. Nicel (ölçülebilir) veriler  $\bar{x} \pm Sd$  olarak tanımlanmış ve normalite analizine Kolmogorov-Smirnov testi ile bakılmıştır. Normal dağılıma uyan verilerde iki grup arasındaki farka Student t testi uygulanmıştır. Normal dağılıma uymayan verilerde ise medyan (Minimum-Maximum) olarak tanımlanmıştır. İki grup arasındaki farka ise Mann-Whitney U testi ile bakılmıştır. Veriler arasındaki ilişkiye ise korelasyon katsayısı hesaplanarak bakılmıştır. Nitel (sayılabilir) veriler ise yüzde olarak tanımlanmıştır. İki grup arasındaki fark ise Fisher Kesin ki-kare testi kullanılarak bulunmuştur.

Anlamlılık seviyesi 0.05 olarak kabul edilmiştir.

## 4. BULGULAR

Bu çalışmada, Erciyes Üniversitesi Pediatri polikliniğinde astım tanısı almış, 3-14 yaş gurubundan 53 hasta çocuktan ve kontrol grubu olarak 3-14 yaş gurubu 16 sağlıklı çocuktan alınan kan serum örneklerinde CCL28 düzeyi araştırılmıştır. Bu örneklerde eozinofil sayıları ve eozinofil yüzdeleri, CRP ve IgE düzeyleri de araştırmaya dahil edilmiştir. Klinik muayene sırasında kaydedilen çocuklara ait yaş, cins, kilo, boy, atopi, ailede atopi ve tanı bilgileri kaydedilmiştir. Tüm bu parametrelerin astımla ve CCL28 düzeyi ile ilişkisi belirlenmeye çalışılmıştır.

Astım tanısı almış çocukların yaş, cins, kilo, boy, atopi ve ailede atopi verileri ve IgE, CRP ve CCL28 düzeyleri ile ilgili değerler Tablo 4.1'de, kontrol grubu verileri ise Tablo 4.2'de verilmiştir.

**Tablo 4.1.** Astım tanısı almış çocukların yaş, cins, kilo, boy, atopi ve ailede atopi ait veriler ve IgE, CRP ve CCL28 düzeyleri ile ilgili değerler

Örn.	Yaş (yıl)	Cins	Kilo (kg)	Boy (cm)	IgE (KU/ml)	CRP (mg/l)	CCL28 (pg/ml)	Eoz per	Eoz sayı	Atopi		Ailede atopi		Tanı
1	8	2	29	133	58,6	>3,13	63	2,9	110	1	Akar	1	Annede AR	Br. astım
2	6	1	19	115	28,8	>3,13	41	3,7	350	1	Çayır polen, akar	1	Annede AR	Br. astım
3	5	1	16	105	0,02	4,8	142	0,1	10	0	0	0	0	Br. astım
4	7	2	24	123	1010	>3,13	20	5,4	390	1	Peanut	1	Babada AR	Br. astım
5	6	1	26	112	315	>3,13	35	7	850	1	Akar	0	0	Br. astım
6	10	1	26	125	200	>3,13	48	3,9	640	0	0	0	0	Br. astım
7	7	2	20	120	171	>3,13	18	9,7	760	1	Çayır polen	0	0	Br. astım
8	5	2	15	100	6,46	>3,13	52	0,6	40	0	0	1	Annede astma	Br. astım
9	7	1	31	120	33	6,23	150	2,2	250	1	Çayır polen	1	Annede AR	Br. astım
10	10	1	30	131	78,9	7,98	240	5,9	420	1	Cockroach	0	0	Br. astım
11	12	1	40	155	15,9	>3,13	22	4	400	0	0	1	anne astma	Br. astım
12	5	1	14	110	134	>3,13	66	0,2	90	1	Akar	0	0	Br. astım
13	5	2	17	95	7,53	11,7	100	2,6	200	0	0	0	0	Br. astım
14	11	1	31	157	78	114	580	3,7	350	1	Akar, ağaç poleni	0	0	Br. astım
15	11	2	30	134	389	>3,13	33	1,3	50	1	Ağaç, çayır, ot polen	0	0	Br. astım
16	9	2	33	135	328	>3,13	31	4	400	1	Çayır polen	0	0	Br. astım
17	9	2	33	143	942	>3,13	5	4,6	550	0	0	0	0	Br. astım
18	4	1	16	94	15,4	4,59	135	2,7	120	1	Çayır polen	0	0	Br. astım
19	7	1	21	109	99,7	>3,13	86	7,5	500	0	0	0	0	Br. astım

Tablo 4.1. 'in devamı

Örn.	Yas (yıl)	Cins	Kilo (kg)	Boy (cm)	IgE (KU/ml)	CRP (mg/l)	CCL28 (pg/ml)	Eoz per	Eoz sayı	Atopi		Ailede atopi		Tanı
20	6	2	27	127	1,37	>3,13	54	1,7	100	0	0	0	0	Br. astım
21	9	1	28	132	1640	>3,13	3	6,6	550	1	Akar	1	Babada astma	Br. astım
22	7	2	20	110	139	4,86	190	0,9	30	0	0	1	Babada AR	Br. astım
23	6	1	20	107	18,5	6,75	250	8,6	690	0	0	0	0	Br. astım
24	5	1	15	100	292	>3,13	16	8,3	690	1	Altermaria, çayır poleni	0	0	Br. astım
25	7	2	35	122	184	>3,13	16	0,7	80	0	0	0	0	Br. astım
26	6	1	24	117	93,9	>3,13	34	7,8	650	0	0	1	Babada astma	Br. astım
27	13	1	43	130	588	>3,13	5	2,1	160	1	Çayır ve alğaç polen	0	0	Br. astım
28	7	2	20	115	88	>3,13	6	5,5	550	1	Alternaria	1	Babada AR	Br. astım
29	6	1	22	117	91,2	>3,13	35	4,6	490	1	Akar	1	Annede AR	Br. astım
30	5	2	15	104	136	>3,13	45	6,8	780	1	Çayır polen	0	0	Br. astım
31	12	1	47	156	186	>3,13	24	4,5	290	0	0	1	Annede astma	Br. astım
32	8	2	25	127	186	>3,13	40	2,2	280	1	Alternaria, çayır poleni	0	0	Br. astım
33	11	2	30	144	200	>3,13	17	6,5	430	0	0	0	0	Br. astım
34	6	1	17	170	118	>3,13	14	2,8	210	0	0	1	Babada astma	Br. astım
35	8	2	27	121	400	>3,13	28	3,4	390	1	Alternaria, çayır poleni, akar	0	0	Br. astım
36	7	2	26	126	38	>3,13	21	1,8	110	1	Çayır, ot polen	0	0	AR, Br. astım
37	7	1	22	118	106	5,37	180	4	370	1	Akar	0	0	Br. astım

38	12	1	48	156	360	>3,13	170	3,9	357	1	Alternaria	1	Annede MAR	Br. astım
39	13	1	61	157	233	>3,13	2	4	330	0	0	1	Annede AR	Br. astım

**Tablo 4.1.** 'in devamı

Örn.	Yas (yıl)	Cins	Kilo (kg)	Boy (cm)	IgE (KU/ml)	CRP (mg/l)	CCL28 (pg/ml)	Eoz per	Eoz sayı	Atopi		Ailede atopi		Tanı
40	8	1	29	122	31,1	>3,13	32	2,5	250	0	0	0	0	Br. astım
41	8	1	28	130	417	>3,13	52	4,4	280	0	0	1	Annede AR	Br. astım
42	6	1	16	98	1430	>3,13	38	8,7	570	0	0	0	0	Br. astım
43	7	2	23	112	12,9	3,28	240	1,8	150	0	0	0	0	Br. astım
44	3	1	15	93	38,9	>3,13	88	0,2	20	0	0	0	0	Br. astım
45	10	2	24	121	263	>3,13	10	4,3	260	0	0	0	0	Br. astım
46	6	1	28	116	20,7	>3,13	56	4,8	890	0	0	0	0	Br. astım
47	4	2	13	90	2,75	>3,13	5	2	190	0	0	0	0	Br. astım
48	4	1	12	85	242	>3,13	34	7,6	730	0	0	0	0	Br. astım
49	14	1	65	155	23,7	5,68	123	0,6	20	1	Ev tozu akarı	0	0	Br. astım
50	4	2	16	100	4	>3,13	39	0,5	40	0	0	1	Kardeş AR	Br. astım
51	7	1	29	130	1,67	4,58	101	4,4	490	1	Çayır poleni	1	Annede astım	Br. astım
52	12	2	34	148	502	>3,13	3	3,95	358	1	Ev tozu akarı	0	0	Br. astım
53	6	1	20	110	15	4,8	140	1,8	140	1	Alternaria, soya, penicillium	0	0	Br. astım

**Tablo 4.2.** Kontrol grubu verileri

Örn.	Yaş (yıl)	Cins	Kilo (kg)	Boy (cm)	IgE (KU/ml)	CRP (mg/l)	CCL28 (pg/ml)	Eoz per	Eoz sayı	Atopi	Ailede atopi	Tanı
1	5	2	22	115	0,1	>3,13	70	1,4	23	0	0	kontrol
2	6	2	19	111	373	60,8	142	1,2	70	0	0	kontrol
3	13	1	15	85	0,01	>3,13	66	1	80	0	0	kontrol
4	11	2	55	157	0,2	7,56	95	0,7	82	0	0	kontrol
4	7	1	24	115	23	10,8	135	0,5	70	0	0	kontrol
6	13	2	47	150	0,01	>3,13	36	1,1	100	0	0	kontrol
7	8	2	26	125	204	>3,13	17	3,7	220	0	0	kontrol
8	7	1	21	116	42	>3,13	35	2	100	0	0	kontrol
9	6	2	18	110	15	>3,13	9	1,6	90	0	0	kontrol
10	9	2	19	116	49,4	>3,13	20	1,4	80	0	0	kontrol
11	9	2	20	115	45,5	4,79	68	1,5	90	0	0	kontrol
12	7	1	21	110	177	>3,13	60	0,5	20	0	0	kontrol
13	5	2	23	116	18	4,8	80	0,8	40	0	0	kontrol
14	13	2	39	144	13,8	>3,13	40	2,2	160	0	0	kontrol
15	4	1	16	90	51	>3,13	4	2,2	150	0	0	kontrol
16	3	2	14	80	12,2	>3,13	63	2	100	0	0	kontrol

*Cins: 1, erkekleri; 2 kızları göstermektedir*



**Tablo 4.3.** Hasta ve kontrol grubunda yaş, kilo, boy, eozinofil yüzdesi ve eozinofil sayısının astım ile ilişkileri

Parametreler	Hasta (n::53) (X+Sd)	Kontrol (n:16) (X+Sd)	T	P
Yaş	7.6±2.6	7.8±3.2	0.3	0.75
Kilo	26.2±11.1	24.8±11.8	0.4	0.67
Boy	122.3±19.8	115.9±21.2	1.1	0.26
Eozinofil sayısı	357.5±266.0	92.2±50.7	3.9	0.00
Eozinofil per.	3.9±2.5	1.5±0.8	3.8	0.00

Tablo 4.3'te Hasta ve kontrol gruplarında yaş, kilo, boy, eozinofil yüzdesi ve eozinofil düzeylerinin astım ile ilişkileri gösterilmiştir. Hasta grubunda yaş ortalaması 7.6±2.6, kilo ortalaması 26.2±11.1, boy ortalaması 122.3±19.8, Eozinofil sayısı ortalaması 357.5±266.0 ve Eozinofil yüzdesi ortalaması 3.9±2.5 iken kontrol grubunda Yaş ortalaması 7.8±3.2, Kilo 26.2±11.1, Boy ortalaması 115.9±21.2, Eozinofil sayısı ortalaması 92.2±50.7 ve Eozinofil yüzdesi ortalaması 1.5±0.8 olarak bulunmuştur. T değerleri yaş için 0.3, Kilo için 0.4, Boy için 1.1, Eozinofil sayısı için 3.9 ve Eozinofil yüzdesi için 3.8 olarak bulunmuştur. İstatistiksel anlamlılık düzeyleri ise yaş için 0.75, Kilo için 0.67, Boy için 0.26, , Eozinofil sayısı için 0.00 ve Eozinofil yüzdesi için 0.00 olarak tespit edilmiştir. Astım ile yaş, kilo ve boy arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamasına rağmen, eozinofil sayısı ve eozinofil yüzde değeri ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olduğu belirlenmiştir. Ayrıca CCL28 ile yaş (hasta grubunda n=53, r=0.71 p=0.51, kontrol grubunda n=16, r=0.83 p=0.57), kilo (hasta grubunda n=53, r=0.15 p=0.97, kontrol grubunda n=16, r=0.75 p=0.87) ve boy (hasta grubunda n=53, r=0.64 p=0.064, kontrol grubunda n=16, r=0.85 p=0.49) düzeyleri arasında ise istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki tespit edilmemiştir.

**Tablo 4.4.** Hasta ve kontrol grubunda CCL28, IgE ve CRP değer aralıkları ve bu parametrelerin astımla ilişkileri

Parametreler	Hasta Med (Min- Mx) (n:53)	Kontrol Med (Min- Mx) (n:16)	P
IgE	112 (0.02-1640)	20.8 (0.01-373)	0.006
CRP	3.1 (3.13-114)	3.13 (3.13-60.8)	0.507
CCL28	39.0 (2-580)	61.8 (4-142)	0.654

Tablo 4.4’de Hasta ve kontrol grubunda CCL28, IgE ve CRP değer aralıkları ve bu parametrelerin astımla ilişkileri gösterilmiştir. Hasta çocuk grubunda IgE değer aralığı 0.02-1640, medyan 112, kontrol grubunda değer aralığı 0.01-37.3, medyan 20.8 bulunmuştur. CRP düzey aralığı hasta grubunda 3.13-114, medyan 3.1, kontrol grubunda değer aralığı 3.13-60.8, medyan 3.13 olarak belirlenmiştir. CCL28 değer aralığı hasta çocuk grubunda 2-280, medyan 39, kontrol grubunda düzey aralığı 4-142, medyan 61.8 olarak belirlenmiştir. Astımla IgE düzeyi arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki varken ( $p=0.006$ ) CRP ve CCL28 düzeyleri ile astım arasındaki ilişki istatistiksel açıdan önemli bulunmamıştır ( $p=0.507$ ,  $p=0.654$ ).

**Tablo 4.5.** Hasta ve kontrol gruplarında CRP, IgE, Eozinofil yüzdesi ve eozinofil sayılarının CCL28 düzeyleri ile karşılaştırılması

Parametreler	Hasta				Kontrol			
	IgE	Eo%	Eo n	CRP	IgE	Eo%	Eo n	CRP
Çocuk sayısı (n)	53	53	53	53	16	53	16	16
Korelasyon (r)	-0.50	-0.10	-0.13	0.72	-0.15	-0.59	-0.50	0.80
İstatistiksel anlamlılık (p)	0.00	0.44	0.32	0.00	0.56	0.01	0.04	0.00

Tablo 4.5’te Hasta ve kontrol gruplarında CRP, IgE, Eozinofil yüzdesi ve eozinofil sayılarının CCL28 düzeyleri ile karşılaştırılması gösterilmiştir. Hasta grubunda IgE düzeyi ile CCL28 düzeyi arasında negatif korelasyon ( $r=-0.50$   $p=0.00$ ), CRP düzeyi ile CCL28 düzeyi arasında ise pozitif korelasyon olduğu görülmektedir. ( $r=0.72$ ,  $p=0.00$ ). Hasta grubunda CCL28 ile IgE ve CRP düzeyleri arasındaki bu korelasyon istatistiksel

olarak anlamlı bulunmuştur ( $p=0.00$ ,  $p=0.00$ ). Kontrol grubunda CCL28 ile CRP arasında pozitif korelasyon bulunmasına rağmen ( $r=0.56$ ), IgE düzeyleri arasında negatif korelasyon bulunmuştur. ( $r=0.15$ ). Kontrol grubunda CCL28'in CRP ile korelasyonunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu, fakat IgE düzeyi ile korelasyonunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir ( $p=0.00$ ,  $p=0.56$ ).

Hasta ve kontrol grubundaki CCL28 ile eozinofil yüzdesi ve eozinofil sayısı arasında istatistiksel açıdan negatif korelasyon bulunmuştur ( $r=-0.10$ ,  $r=-0.13$ ,  $r=-0.59$ ,  $-0.50$ ). Hasta grubunda bu negatif korelasyon istatistiksel olarak anlamlı olmamasına rağmen kontrol grubunda anlamlı bulunmuştur ( $p=0.44$ ,  $p=0.32$ ,  $p=0.01$ ,  $p=0.04$ ).

**Tablo 4.6.** Astım ile hasta yakınlarının hikayeleri ve atopi ilişkisi

Parametreler	Hasta		Kontrol		Toplam		Ortalama (X)	İstatistiksel anlamlılık (p)
	N	%	n	%	n	%		
Atopi yok	26	61.9	16	38.1	42	100	13,3	0,00
Atopi var	27	100	0	0	27	100		
Toplam	53	76.8	16	23.0	69	100		
Atopi yok	35	68.6	16	31.4	51	100	7.3	0.007
Ailede atopi var	18	100	0	0	18	100		
Toplam	53	76.8	16	23.2	69	100		

Tablo 4.6.'da atopi-Astım ve ailede atopi -Astım ilişkisi gösterilmiştir. Hasta çocuk grubunda 26 kontrol grubunda 16 atopisi olmayan çocuk vardır. Atopisi olmayan çocukların %61.9'u hasta çocuk grubunda yer alırken %38.1'i kontrol grubunda yer almaktadır. Tüm atopisi olan çocuklar ise (27çocuk) hasta grubunda yer almaktadır. Burada atopi ile Astım düzeyi arasındaki ilişkinin istatistiksel açıdan anlamlı olduğu görülmüştür. ( $\chi^2=13.3$ ,  $p=0.00$ ) 35 astımlı çocukta ve kontrol grubundan 16 çocukta ailede atopi hikayesi yoktur. Ailede atopi hikayesi olmayan çocukların % 68,6'sı astımlı çocuk grubunda, % 31.4'ü kontrol grubunda yer almaktadır. Hikayesi olan çocukların ise % 100'ü astım hastası çocukların olduğu gruptadır. Astım ile ailedeki atopi arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki olduğu tespit edilmiştir ( $\chi^2=7.3$  ve  $p=0.007$ ).

**Tablo 4.7** CCL28 ile atopi ve ailedeki atopi düzeylerinin ilişkisi

Parametreler	Çocuk sayısı (n)	CCL28 Med (Min- Mx)	İstatistiksel anlamlılık (p)
Atopi yok	26	38.5 (2-250)	0.69
Atopi var	27	40.0 (3-580)	
Ailede atopi yok	35	40 (3-580)	0.54
Ailede atopi var	18	37.0 (2-190)	

Tabloda atopisi olmayan 26 çocuk için medyan değeri 38.5 (2-250) iken atopisi olan 27 çocuk için medyan değeri 40.0 (3-580)'dır. Atopi için p değeri 0.69'dir. Ailede atopisi olmayan 35 çocuk için medyan değeri 40 (3-580) iken atopisi olan 18 çocuk için medyan değeri 37.0 (2-190)'dir. Atopi için p değeri 0.54'dür. Bu değerlere bakılarak CCL28 ile atopi ve ailedeki atopi düzeyleri arasındaki ilişkinin istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı söylenebilmektedir.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Astım çocukluk çağında sıklıkla rastlanan kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Hastalığın dünya üzerindeki dağılımı, ülkeden ülkeye ve bazen bir ülke içinde bölgeden bölgeye değişim göstermektedir. (5,6). Astımlı çocuklarda ilk atak çok erken yaşlarda başlamaktadır. Hatta astımın 3 yaşından önce başlamasının daha şiddetli hastalık riski taşıdığı, ayrıca nüks riskinin yüksek olduğu gösterilmiştir (9). Çocuklarda 3-16 yaş grubu prevalans ülkelere göre %0.6 - %49 arasında değişmektedir (9).

Astım uygun şekilde tedavi edilmediği takdirde önemli ölçüde morbidite ve mortaliteye neden olabilir. Bununla birlikte astım etyolojisinin karmaşık oluşu astımın tanı ve tedavisinde sorunlar yaşanmasına neden olabilmektedir. Bundan dolayı tanı ve tedaviye yardımcı olabilecek çalışmaların önemi artmıştır. Astım etiyolojisinde rol alabilecek sitokinler ve kemokinler de araştırılmaya başlanmıştır.

Grutta ve arkadaşları Fransada 17 astım hastası ve 6 sağlıklı çocuğu 18 ay süreyle gözlem altında tutmuşlardır. Çalışmaları sonucunda astımın atak ve remisyon fazlarında inflamasyon düzeylerinin değişiklik gösterdiğini saptamışlardır. Ancak yaş grupları, kilo, boy ve cinsiyetler arasında anlamlı fark tespit etmediklerini bildirmişlerdir (105).

Bu çalışmada, astım ile boy, kilo yaş ve cinsiyetler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır. Bu değerler Grutta ve arkadaşlarının çalışmalarıyla uyumludur. Yine bu çalışmada boy, kilo, yaş ve cinsiyetler CCL28 düzeyi ile karşılaştırılmış, değerler arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki bulunmamıştır. Bu konuda literatürde çalışmaya rastlanmamıştır.

Astım alerjik hastalıklar arasında sınıflandırılmasına rağmen intristik ( nonalerjik ) astım değimiz alerjik olmayan astımdan da söz edilmektedir. Bu tür astımlarda Total IgE düzeyi normal veya düşük düzeydedir ve astımın patogenizinde çok az rolü vardır. Daha çok çocuklarda görülen türü olan alerjik astımda total IgE ve spesifik IgE düzeyleri atopik hastalıkları destekler (103).

Wisconsin'de 16 alerjik astımlı hastadan alınan BAL örneğinde ilk ve 48. saatlerde Th1 ve Th2 sitokinlerin jenerasyon artışı araştırılmış, geç faz yanıtında ve alerjen kaynaklı havayolu inflamasyonda her iki tip sitokinlerinde önemli ölçüde rol aldığı belirlenmiştir. Bunun yanı sıra astımlı hastalarda IgE düzeyinde belirgin artışın olduğu belirtilerek hasta yakınlarının hikayeleri ve atopi düzeyleri ile de anlamlı ilişkiler tespit edilmiştir (106).

Fransada yapılan bir çalışmada astım hastalarında Th1 ve Th2 lenfositlerin toplanmasını sağlayan kemokinler ve reseptörleri araştırılmıştır. Alerjen dışında gelişen tip-2 immün yanıtta kemokinlerin önemli roller üstlendiği, fakat Th1 kemokinlerin ve onların reseptörlerinin daha geç zamanda salındığı ortaya koyulmuştur yine bu çalışmada hasta yakını hikayeleri ve atopi düzeyleri arasında ilişki ve IgE düzeyi ile astım arasındaki ilişki anlamlı bulunmuştur (107).

Bu çalışmada astımlı ve sağlıklı çocuklardan alınan kan örnekleri UniCAP (Pharmacia Diagnostics) aletiyle çalışılmıştır. Belirlenen IgE değerleri ile astım arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunmuştur. Astım sürecinde bu durum Wisconsin ve Fransada yapılan çalışmalarla uyumluluk göstermektedir.

Bu çalışmada bulunan IgE değerleri CC kemokinlerden olan CCL28 düzeyleri ile karşılaştırıldığında hasta grubunda CCL28 ve IgE değerleri arasında negatif korelasyon olduğu ve bununda istatistiksel olarak anlamlı olduğu, bununla birlikte kontrol grubunda da negatif korelasyon olmasına karşın ilişkinin istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı ortaya koyulmuştur. Literatürlerde CCL28 düzeyi ile IgE düzeylerini karşılaştıran çalışmalara rastlanılamamıştır.

Bu çalışmada astım ile atopi düzeyleri ve ailelerin atopi düzeylerinin ilişkisine bakılmış, astımla atopi düzeyleri ve ailelerin atopi düzeyleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki bulunmuştur. Bu durum Wisconsin ve Fransada yapılan çalışmalarla uyumluluk göstermektedir. Bu çalışmada, astım sürecinde hasta ailesinin ve kendisinin atopi hikayeleri ile CCL28 düzeyi karşılaştırılmış hikaye ve atopinin CCL28 düzeyi ile ilişkisi istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır. Literatürlerde bu konudaki çalışmalara rastlanılmamıştır.

Astım sürecinde önemli parametrelerden biride eozinofillerdir. Astım sürecinde eozinofillerin önemli roller üstlendikleri ve sayılarının arttığı dikkate alınmış, eozinofillerin migrasyonunda kemokinlerin aktif roller üstlendikleri görülerek araştırmalar bu doğrultuda devam ettirilmiştir (39).

Liu ve arkadaşları 16 sağlıklı ve 16 astım hastası fareden aldıkları BAL örnekleriyle yaptıkları çalışmada eozinofil sayısı ve eozinofil yüzde değerleriyle astımın arasında istatistiksel açıdan anlamlı değer tespit etmişlerdir (106).

Bu çalışmada, eozinofil sayısı ve eozinofil yüzde değerleriyle astımın ilişkisi karşılaştırılmış ve istatistiksel açıdan anlamlı ilişkinin olduğu belirlenmiştir. Bu durum Liu ve arkadaşlarının çalışmalarıyla uyumludur.

Astım immünolojisinde IL-2, IL3, IL4, IL5, IL6, IL9, IL10, IL12, IL13 gibi sitokinlerin ve CCL5 ve CCL11 gibi kemokinlerin önemli roller üstlendikleri bulunmuştur (91). CCL28 gibi son zamanlarda tanımlanmış kemokinlerinde astım süreciyle ilişkili olabileceği düşünülmüş ve bu doğrultuda da çalışmalara başlanmıştır (4,74).

John ve arkadaşları hamamböceği antijeni (CRA) ile duyarlılaştırdıkları 5 fareden ve sağlıklı albino 5 fareden aldıkları akciğer biyopsi parçalarını homogenize etmişler, ve akciğer inflamasyonunu histopatolojik yöntemlerle araştırmışlardır. Daha sonra bu örneklerle ELISA yöntemini kullanarak murin CCL28'i araştırmışlardır. Bu çalışma sonucunda, CRA ile duyarlılaştırılan farelerde CCL28 düzeyindeki artışın ilk 24 saat içerisinde pik yapmasına karşın eotaksin düzeyindeki artışın ilk 8 saat içerisinde pik yaptığı gösterilmiştir. Ayrıca histokimyasal çalışmalarda eozinofil düzeyinde artışı tespit etmişlerdir. Bütün bu sonuçlara dayanarak CCL28'in eotaksin ile koordine olarak regüle edilmiş eozinofillerin akciğer peribronşiyal bölgelerine toplanmasında rol oynadığını bildirmişlerdir (91).

Bu çalışmada astımlı ve sağlıklı çocukların serum örneklerindeki eozinofil yüzdeleri ve eozinofil sayıları CCL28 düzeyi ile karşılaştırılmış, hasta grubundaki çocuklarda CCL28 ile eozinofil yüzdesi ve eozinofil sayısı arasında istatistiksel açıdan negatif korelasyon bulunmuştur. Kontrol grubundaki çocuklarda ise bulunan eozinofil yüzdesi ve eozinofil sayılarının CCL28 ile ilişkisine bakıldığında bir fark görülmekle birlikte bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır. Bu durum John ve arkadaşlarının çalışmalarına uygunluk göstermemektedir. Bu uygunsuzluk, onların fareler üzerine çalışmış olması ve sayılarının az olmasından kaynaklanmış olabilir.

CRP inflamasyonun akut faz ve cevabıyla izlenmesinde kullanılabilen başlıca proteinlerdendir. Astım sürecinde önemli parametrelerden biride inflamasyondur. Bu açıdan inflamasyonlu olgularda inflamasyonun akut faz ve cevabıyla izlenmesinde kullanılabilen CRP'nin astımlı hastalarda da tanı ve takipte rol alabileceği düşünülmüştür (108).

Mersin üniversitesinden Çalikoğlu ve arkadaşları, 40 stabil astımlı hasta ve 30 sağlıklı kontrolü dahil ettikleri ve astımlı hastalarda CRP düzeylerini immunotürbidometrik yöntemlerle ölçtükleri çalışmada CRP düzeyini astımlı hastalarda kontrollerden anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır. Sonuç olarak CRP'nin astımdaki inflamasyonu gösterme ve izlemede faydalı olup olmadığını saptamak için, hastalığın farklı evrelerindeki hastalarda ve kesin inflamasyon göstergelerinin de değerlendirildiği ileri çalışmalara gereksinim olduğunu bildirmişlerdir (108).

Bu çalışmada hasta ve kontrol grubunda CRP astım ilişkisi araştırılmış, astım ile CRP arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Bu durum Çalikoğlu ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmayla uygunluk göstermemektedir. Bunun nedeni astımın remisyon ve atak fazlarında imflamasyon düzeylerinin değişmesi olabilir.

Son zamanlardaki çalışmalar inflamasyonlu olgularda CCL28 düzeyinde artışın olduğunu göstermektedir (67,88,90,109).

Heishime ve arkadaşları insanların ve BalbC farelerin ekzokrin salgı bezlerinden trakealarından ve kolonlarından biyopsi örnekeri ayrıca süt ve tükürük örnekleri almışlar, bu örneklerle PCR, Flow sitometrik analiz, ELISA ve immünohistokimyasal analiz yöntemleriyle müdahale etmişlerdir. Çalışmaları neticesinde insan ve fare CCL28'inin *Candida albicans*, gram negatif ve gram pozitif bakterilerin neden olduğu inflamasyonda artış gösterdiğini, insan CCL28'inin C terminal bölgesindeki 28 amino



asitin selektif kandidasidal aktiviteye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca CCR3 ve CCR10 eksprese eden hücrelerde CCL28 düzeyinin daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir (67).

Kagami ve arkadaşları atopik dermatitisli 20 hasta, psoriasis vulgarisli 28 hasta ve büllöz pemfiguslu 20 hastalardan ve 20 sağlıklı kontrolden aldıkları kan serum örneklerinde CCL28 düzeyindeki artışı araştırmışlardır. Bu çalışma sonucunda her üç grup hasta örneklerindeki CCL28 düzeyinin kontrol grubuna oranla yüksek olduğu ve CCL28'in diğer kemokinlerle koordine olarak kronik inflamatuvar deri hastalıklarının patogenezinde rol aldığını belirtmişlerdir (90).

Feng ve arkadaşları Rotavirüslerle infekte ettikleri farelerin ve kontrol grubu farelerin ince bağırsaklarından aldıkları doku parçalarını çeşitli antijenlerle muamele ederek incelemeye tabi tutmuşlar, bu inceleme sonucunda rota virüsle infekte incebağırsak hücrelerinde CCL25 ve CCL28 düzeyinde artış tespit etmişlerdir (109).

Bu çalışmada hasta ve kontrol gruplarından alınan kan serum örneklerinden nefelometri yöntemiyle belirlenen CRP düzeyleri ile CCL28 düzeyleri arasında pozitif korelasyon belirlemiş ve bu durum istatistiksel açıdan olumlu bulunmuştur. CRP düzeyinin inflamasyonu göstermesi itibariyle bu çalışmada bulunan pozitif korelasyon hem Heishime ve arkadaşlarının hem Kagami ve arkadaşlarının hem de Feng ve arkadaşlarının çalışmalarına uygunluk göstermektedir.

English ve arkadaşlar alerjik astımın murin modelinde CCL28 ve CCR10 ekspresyonu ile solunum sistemi inflamasyonunun ilişkisini araştırmışlardır. 6 ila 8 haftalık 8 astımlı ve 8 sağlıklı dişi BALB/c fareden aldıkları epitelyal havayolu hücrelerine *in vivo* ortamda immünohistokimyasal yöntemlerle muamele etmişler ve bazı murin havayolu dokularında CCL28 ekspresyonunun düşük düzeyde olduğunu belirlemişlerdir. Ayrıca invitro ortamda havayolu epitelyum hücrelerindeki CCL28 ekspresyonunun IL-1  $\beta$  ve TNF- $\alpha$  vasıtasıyla arttırıldığını bildirmişlerdir. inflame havayollarında mRNA ve CCR10 eksprese eden hücrelerde CCL28 artışı tespit etmişlerdir (92).

İrlanda'da bir çocuk hastanesinde O'Gorman ve arkadaşları astımlı çocukların, tükürük ve havayolu A549 insan epitelyal hücrelerinde CCL28 ekspresyonunu ELISA yöntemiyle araştırmışlardır. CCL28 ekspresyonundaki artışın düşük, buna karşın IL-1  $\beta$  ve TNF- $\alpha$  ekspresyonundaki artışın yüksek düzeyde olduğunu göstermişlerdir. A549 hücrelerinde NFKB fosforilasyonunun IL-1  $\beta$  ve TNF- $\alpha$ 'nın stimülasyonuna neden olduğunu buna

karşın IL-1  $\beta$  ve TNF- $\alpha$ 'nın redüksiyonu ile ilişkili olarak NF $\kappa$ B p50-p65 fosforilasyonunun antogonist inhibisyonunun CCL28 ekspresyonuna neden olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışma ışığında O'Gorman ve arkadaşları CCL28'in ileri derecede mikrobiyal hastalıklarda ve havayolu inflamasyonlarında rol oynadığını, ayrıca NF $\kappa$ B bağımlı mekanizmalar yoluyla astım patolojisinde artışa neden olduğunu ileri sürmüşlerdir (95).

Bu çalışmada astımlı ve sağlıklı çocuklardan alınan kan serum örnekleri ELISA yöntemiyle incelenerek CCL28 düzeyleri belirlenmiştir. Bunun neticesinde CCL28 düzeyi ile astım arasındaki ilişki istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır. Bu durum gerek English ve arkadaşlarının gerekse O'Gorman ve arkadaşlarının çalışmasıyla uyumlu değildir. Çünkü hasta grubunda inflamasyonlu çocuk sayısının az olması, hatta kontrol grubumuzda inflamasyon göstergesi olan CRP düzeyinin yüksek olduğu çocukların bulunması bu farklılığa neden olmuş olabilir.

Sonuç olarak; bu çalışmada, astım ile atopi düzeyi, aile atopi düzeyi, eozinofil sayısı ve eozinofil yüzdesi ve IgE düzeyi arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki bulunmuştur. Buna karşın astım ile CRP ve CCL28 düzeyleri arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki belirlenmemiştir. CCL28 düzeyi ile yaş, kilo, boy, cinsiyetler arasında istatistiksel açıdan ilişki bulunmamıştır. CCL28 ile IgE düzeyi, eozinofil sayıları ve yüzdeleri arasında istatistiksel açıdan negatif, CRP düzeyi arasında ise pozitif korelasyon saptanmıştır. CCL28 ile IgE düzeyi, eozinofil sayıları ve yüzdeleri arasında istatistiksel açıdan negatif korelasyon göstermesi, CCL28'in alerjik reaksiyonlarında rol almadığı veya rolünün az olduğunu gösterebilir. Ancak bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. CCL28'in CRP ile pozitif korelasyon göstermesiyle, inflamasyonun neden olduğu hastalıklarda CCL28'in belirleyici parametre olarak kullanılabileceği belirlenmiştir. Ancak bu konuda daha ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir.

## 6. KAYNAKLAR

1. Sears, MR, Greene, JM, Willan, AR, et al A longitudinal, population-based, cohort study of childhood asthma followed to adulthood. *N Engl J Med* 2003;349,1414-1422
2. Fujimaki H, Ui N, Ushio H, Nohara K, Endo T. Roles of CD4+ and CD8+ T cells in adjuvant activity of diesel exhaust particles in mice. *Int Arch Allergy Immunol* 2001;124:485–496.
3. Bel EH: Clinical phenotypes of asthma. *Curr Opin Pulm Med* 2004, 10:44-50.
4. Cohn L, Elias JA, Chupp GL: Asthma: mechanisms of disease persistence and progression. *Annu Rev Immunol* 2004, 22:789-815.
5. Falliers, CJ Atopy and asthma: prevalence contrasts; [letter]. *Ann Allergy Immunol* Weiland, SK, Hüsing, A, Strachan, DP, et al Climate and the prevalence of symptom of asthma, allergic rhinitis, and atopic eczema in children. *Occup Environ Med* 2004;61,609-615
6. Wright, RJ, Mitchell, H, Visness, CM, et al Community violence and asthma morbidity: the inner-city asthma study. *Am J Public Health* 2004;94,625-632
7. Öneş Ü, Sapan n, Somer A, dişçi R, Salman N ve ark. Prevalence of Childhood asthma in İstanbul, Turkey. *Allergy* 1997; 52(5): 570-5.
8. Karaman Ö, Türkmen M, Uzuner N Allergic diseases prevalence in İzmir, Turkey 1997 *Allergy*;52: 689-90

9. DeMarco, R, Pattaro, C, Locatelli, F, et al Influence of early life exposures on incidence and remission of asthma throughout life. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:845-852
10. Pilette C, Godding V, Kiss R, Delos M, Verbeken E, Decaestecker C, De Paepe K, Vaerman JP, Decramer M, Sibille Y. Reduced epithelial expression of secretory component in small airways correlates with airflow obstruction in chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:185–194.
11. Palmqvist M, Cui ZH, Sjostrand M, Linden A, Lotvall J. Reduced late asthmatic response by repeated low-dose allergen exposure. *Eur Respir J* 2001;17:872–880.
12. van der Pouw Kraan T, van Veen A, Boeije L, et al. An IL-13 polymorphism associated with increased risk of allergic asthma. *Genes Immun* 1999;1:61–165.
13. Shaheen, SO, Newson, RB, Sherriff, A, et al Paracetamol use in pregnancy and wheezing in early childhood. *Thorax* 2002;57:958-963
14. Cockcroft DW. How best to measure airway responsiveness. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:1514–1515.
15. Platts-Mills T, Vaughan J, Squillace S, Woodfolk J, Sporik R. Sensitisation, asthma, and a modified Th2 response in children exposed to cat allergen: a population-based cross-sectional study. *Lancet* 2001;357:752–756
16. Fujimaki H, Ui N, Endo T. Induction of inflammatory response of mice exposed to diesel exhaust is modulated by CD4(+) and CD8(+) T cells. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:1867–1873.
17. Hayday A, Viney JL. The ins and outs of body surface immunology. *Science* 2000;290:97–100.
18. von Andrian UH, Mackay CR. T-cell function and migration. Two sides of the same coin. *N Engl J Med* 2000;343:1020–1034.
19. Wills-Karp M. Immunological basis of antigen-induced airway responsiveness. Annu Ray A, Cohn L. Th2 cells and GATA-3 in asthma: new insights into the regulation of airway inflammation. *J Clin Invest* 1999;104:985–93.
20. Mackay CR. Follicular homing T helper (Th) cells and the Th1/Th2 paradigm. *J Exp Med* 2000; 192: F31–F34.
21. Peebles RS Jr, Hamilton RG, Lichtenstein LM, Schlosberg M, Liu MC, Proud D, Togias A. Antigen-specific IgE and IgA antibodies in bronchoalveolar lavage fluid are associated with stronger antigen-induced late phase reactions. *Clin Exp Allergy* 2001;31:239–248.
22. Phalipon A, Corthesy B. Novel functions of the polymeric Ig receptor: well beyond transport of immunoglobulins. *Trends Immunol* 2003;24:55–58.

23. Grunewald SM, Werthmann A, Schnarr B, et al. An antagonistic IL-4 mutant prevents type I allergy in the mouse: inhibition of the IL-4/IL-13 receptor system completely abrogates humoral immune response to allergen and development of allergic symptoms in vivo. *J Immunol* 1998;160:4004–4009.
24. Grob M, Schmid-Grendelmeier P, Joller-Jemelka HI, et al.: Altered intracellular expression of the chemokines MIP-1alpha, MIP-1beta and IL-8 by peripheral blood CD4+ and CD8+ T cells in mild allergic asthma. *Allergy* 2003, 58:239-245.
25. Lilly CM, Nakamura H, Belostotsky OI, Haley KJ, Garcia-Zepeda EA, Luster AD, Israel E. Eotaxin expression after segmental allergen challenge in subjects with atopic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:1669–1675.
26. Hogan SP, Matthaei KI, Young JM, et al. A novel T cell-regulated mechanism modulating allergen-induced airways hyperreactivity in BALB/c mice independently of IL-4 and IL-5. *J Immunol* 1998;161:1501–1509.
27. Zhu Z, Homer RJ, Wang Z, Chen Q, et al. Pulmonary expression of interleukin-13 causes inflammation, mucus hypersecretion, subepithelial fibrosis, physiologic abnormalities, and eotaxin production. *J Clin Invest* 1999;103:779–88.
28. Humbert M, Menz G, Ying S, et al. The immunopathology of extrinsic (atopic) and intrinsic (non-atopic) asthma: more similarities than differences. *Immunol Today* 1999;20:528–33.
29. PD, Holt PG. Association of IL12B promoter polymorphism with severity of atopic and nonatopic asthma in children. *Lancet* 2002;360:455–459.
30. Liu YC, Khawaja AM, Rogers DF. Pathophysiology of airway mucus secretion in asthma. In: Barnes PJ, Rodger IW, Thomson NC, eds. *Asthma, basic mechanisms and clinical management*. London: Academic Press, 1998:205–27.
31. Lukacs NW: Role of chemokines in the pathogenesis of asthma. *Nat Rev Immunol* 2001, 1:108-116
32. Faffe DS, Whitehead T, Moore PE, Baraldo S, Flynt L, Bourgeois K, Panettieri RA, Shore SA. IL-13 and IL-4 promote TARC release in human airway smooth muscle cells: role of IL-4 receptor genotype. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003;285:L907–L914.
33. Matricardi, PM, Rosmini, F, Panetta, V, et al Hay fever and asthma in relation to markers of infection in the United States. *J Allergy Clin Immunol* 2002;110,381-387
34. Leung TF, Wong CK, Lam CW, Li AM, Ip WK, Wong GW, Fok TF. Plasma TARC concentration may be a useful marker for asthmatic exacerbation in children. *Eur Respir J* 2003;21:616–620.

35. Yang, D., A. Biragyn, L. W. Kwak, J. J. Oppenheim. 2002. Mammalian defensins in immunity: more than just microbicidal. *Trends Immunol.* 23:291.
36. CC Simon HU, Yousefi S, Schranz C, et al. Direct demonstration of delayed eosinophil apoptosis as a mechanism causing tissue eosinophilia. *J Immunol* 1997;158:3902–3908.
37. CD2 Yang M, Hogan SP, Mahalingam S, et al.: Eotaxin-2 and IL-5 cooperate in the lung to regulate IL-13 production and airway eosinophilia and hyperreactivity. *J Allergy Clin Immunol* 2003, 112:935-943.
38. CE Svensson L, Lilliehook B, Larsson R, Bucht A.  $\gamma\delta$ T cells contribute to the systemic immunoglobulin E response and local B-cell reactivity in allergic eosinophilic airway inflammation. *Immunology* 2003;108:98–108.
39. Bracke M, van de Graaf E, Lammers JW, Coffey PJ, Koenderman L. In vivo priming of Fc $\epsilon$ R functioning on eosinophils of allergic asthmatics. *J Leukoc Biol* 2000;68:655–661.
40. Lacy P, Moqbel R: Eosinophil cytokines. *Chem Immunol* 2000, 76:134-155.
41. Prescott SL: New concepts of cytokines in asthma: is the Th2/Th1 paradigm out the window? *J Paediatr Child Health* 2003, 39:575-579.
42. Fan L, Reilly CR, Luo Y, Dorf ME, Lo D. Cutting edge: ectopic expression of the Chemokine TCA4/SLC is sufficient to trigger lymphoid neogenesis. *J Immunol.* 2000;164:3955-3959.
43. Panina-Bordignon P, Papi A, Mariani M, Di Lucia P, Casoni G, Bellettato C, Buonsanti C, Miotto D, Mapp C, Villa A, et al. The C–C chemokine receptors CCR4 and CCR8 identify airway T cells of allergen-challenged atopic asthmatics. *J Clin Invest* 2001;107:1357–1364.
44. Matsukawa A, Hogaboam CM, Lukacs NW, Lincoln PM, Evanoff HL, Kunkel SL. Pivotal role of the CC Chemokine, macrophage-derived Chemokine, in the innate immune response. *J Immunol.* 2000;164:5362-5368.
45. Luster AD. Chemokine --chemotactic cytokines that mediate inflammation. *N Engl J Med.* 1998;338:436-445.
46. Murphy PM. Viral exploitation and subversion of the immune system through chemokine mimicry. *Nat Immunol* 2001;2:116–122.
47. Dumoutier L, Louahed J, Renauld J-C. Cloning and characterization of IL-10-related T cell-derived inducible factor (IL-TIF), a novel cytokine structurally related to IL-10 and inducible by IL-9. *J Immunol* 2000;164:1814–9
48. Oettgen HC. Regulation of the IgE isotype switch: new insights on cytokine signals and the functions of epsilon germline transcripts. *Curr Opin Immunol* 2000;12:618–623.

49. Nanki T, Lipsky PE. Lack of correlation between chemokine receptor and T(h)1/T(h)2 cytokine expression by individual memory T cells. *Int Immunol* 2000;12:1659–1667.
50. Reif K, Ekland EH, Ohl L, et al. Balanced responsiveness to chemoattractants from adjacent zones determines B-cell position. *Nature*. 2002;416:94-99.
51. Romagnani P. From basic science to clinical practice: use of cytokines and chemokines as therapeutic targets in renal diseases. *J Nephrol*. 2005;18:229-233.
52. Manjunath, N., P. Shankar, J. Wan, W. Weninger, M. A. Crowley, K. Hieshima, T. A. Springer, X. Fan, H. Shen, J. Lieberman, U. H. von Andrian. Effector differentiation is not prerequisite for generation of memory cytotoxic T lymphocytes. *J. Clin. Invest.* 2001; 108:871.
53. Lamkhioed B, Garcia-Zepeda EA, Abi-Younes S, Nakamura H, Jedrzkiewicz S, Wagner L, Renzi PM, Allakhverdi Z, Lilly C, Hamid Q, Luster AD: Monocyte chemoattractant protein (MCP)-4 expression in the airways of patients with asthma. Induction in epithelial cells and mononuclear cells by proinflammatory cytokines. *Am J Respir Crit Care Med* 2000, 162:723-732
54. Sanderson CJ. Interleukin-5. In: Thomson A, ed. *The cytokine handbook*, 3rd ed. London: Academic Press, 1998:175–196.
55. Andrew DP, Ruffing N, Kim CH, Miao W, Heath H, Li Y, Murphy K, Campbell JJ, Butcher EC, Wu L. C–C chemokine receptor 4 expression defines a major subset of circulating nonintestinal memory T cells of both Th1 and Th2 potential. *J Immunol* 2001;166:103–111.
56. Thelen M. Dancing to the tune of chemokines. *Nat Immunol* 2001;2:129–134.
57. Sekiya T, Miyamasu M, Imanishi M, Yamada H, Nakajima T, Yamaguchi M, Fujisawa T, Pawankar R, Sano Y, Ohta K, et al. Inducible expression of a Th2-type CC chemokine thymus- and activation-regulated chemokine by human bronchial epithelial cells. *J Immunol* 2000;165:2205–2213.
58. Zlotnik A & Yoshie O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity* 2000; 12: 121–127.
59. D'Ambrosio D, Mariani M, Panina-Bordignon P, Sinigaglia F. Chemokines and their Receptors guiding T lymphocyte recruitment in lung inflammation. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;164:1266-1275.
60. Goebeler M, Trautmann A, Voss A, Brocker EV, Toksoy A, Gillitzer R. Differential and sequential expression of multiple chemokines during elicitation of allergic contact hypersensitivity. *Am J Pathol* 2001;158:431–440.
61. Elsner J, Mack M, Bruhl H et al. Differential activation of CC chemokine receptors by AOP-RANTES. *J Biol Chem* 2000; 275: 7787–7794.

62. Politz O, Kodelja V, Guillot P, Orfanos CE, Goerdts S. Pseudoexons and regulatory elements in the genomic sequence of the beta-chemokine, alternative macrophage activation-associated CC-chemokine (AMAC)-1. *Cytokine* 2000;12:120–126.
63. Murphy PM, Baggiolini M, Charo IF, et al. International union of pharmacology. XXII. Nomenclature for Chemokine Receptors *Pharmacol Rev.* 2000;52:145-176
64. Kunkel EJ, Boisvert J, Murphy K, Vierra MA, Genovese MC, Wardlaw AJ, Greenberg HB, Hodge MR, Wu L, Butcher EC, et al. Expression of the chemokine receptors CCR4, CCR5, and CXCR3 by human tissue-infiltrating lymphocytes. *Am J Pathol* 2002;160:347–355.
65. Bochner BS, Hudson SA, Xiao HQ, Liu MC. Release of both CCR4-active and CXCR3-active chemokines during human allergic pulmonary late-phase reactions. *J Allergy Clin Immunol* 2003;112:930–934.
66. Hancock WW, Gao W, Faia KL, Csizmadia V. Chemokines and their receptors in allograft rejection. *Curr Opin Immunol* 2000; 12: 511–516.
67. Horuk R & Ng HP. Chemokine receptor antagonists. *Med Res Rev* 2000; 20: 155–68.
68. Hieshima K, Ohtani H, Shibano M, Izawa D, Nakayama T, Kawasaki Y, Shiba F, Shiota M, Katou F, Saito T, Yoshie O: CCL28 has dual roles in mucosal immunity as a chemokine with broad-spectrum antimicrobial activity. *J Immunol* 2003, 170:1452-1461
69. Lortat-Jacob, H., A. Grosdidier, A. Imberty. 2002. Structural diversity of heparan sulfate binding domains in chemokines. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99:1229.
70. Kim CH, Rott L, Kunkel EJ, Genovese MC, Andrew DP, Wu L, Butcher EC. Rules of chemokine receptor association with T cell polarization in vivo. *J Clin Invest* 2001;108:1331–1339.
71. Colvin BL, Thomson AW. Chemokines, their Receptors, and transplant outcome Transplantation.. 2002;74:149-155.
72. Loetscher P, Moser B, Baggiolini M. Chemokines and their receptors in lymphocyte traffic and HIV infection. *Adv Immunol* 2000; 74: 127–80.
73. Moser B & Loetscher P. Lymphocyte traffic control by chemokines. *Nature Immunol* 2001; 2: 123–128.
74. Campbell, J. J., E. C. Butcher. Chemokines in tissue-specific and microenvironment-specific lymphocyte homing. *Curr. Opin. Immunol.*, 2000; 12:336.
75. Culley FJ, Fadlon EJ, Kirchem A, et al.: Proteoglycans are potent modulators of the biological responses of eosinophils to chemokines. *Eur J Immunol* 2003, 33:1302-1310.



76. Gonzalo JA, Lloyd CM, Wen D, et al. The coordinated action of CC chemokines in the lung orchestrates allergic inflammation and airway hyperresponsiveness. *J Exp Med* 1998;188:157–67.
77. John AE, Lukacs NW: Chemokines and asthma. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis* 2003, 20:180-189.
78. Mackay CR. Chemokines: immunology's high impact factors. *Nat Immunol*. 2001;2:95-101.
79. Lezcano-Meza D, Negrete-Garcia MC, Dante-Escobedo M, Teran LM. The monocyte-derived chemokine is released in the bronchoalveolar lavage fluid of steady-state asthmatics. *Allergy* 2003;58:1125–1130.
80. Luther SA, Cyster JG. Chemokines as regulators of T cell differentiation. *Nat Immunol*. 2001;2:102-107.
81. Luster, A. D.. 1998. Chemokines—chemotactic cytokines that mediate inflammation. *N. Engl. J. Med.* 338:436.
82. Gonzalo JA, Pan Y, Lloyd CM, et al. Mouse monocyte-derived chemokine is involved in airway hyperreactivity and lung inflammation. *J Immunol* 1999;163:403–411.
83. Nickel RG, Casolaro V, Wahn U, et al. Atopic dermatitis is associated with a functional mutation in the promoter of the C-C chemokine RANTES. *J Immunol* 2000;164:1612–1616.
84. Teran LM. CCL chemokines and asthma. *Immunol Today* 2000;21:235–41
85. Kakinuma, T, Saeki, H, Tsunemi, Y, et al: Increased serum cutaneous T cell-attracting chemokine (CCL27) levels in patients with atopic dermatitis and psoriasis vulgaris. *J Allergy Clin Immunol* 2003 111:592–597, 10.1067/mai.2003.114 | |
86. Karpus WJ, Lukacs NW, Kennedy KJ, et al. Differential CC chemokine-induced enhancement of T helper cell cytokine production. *J Immunol* 1997;158:4129–36.
87. Novak, N, Bieber, T, Leung, DYM: Immune mechanisms leading to atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2003 112:S128–S139, 10.1016/j.jaci.2003.09.032 |
88. Wang W, Soto H, Oldham ER, Buchanan ME, Homey B, Catron D, Jenkins N, Copeland NG, Gilbert DJ, Nguyen N, Abrams J, Kershenovich D, Smith K, McClanahan T, Vicari AP, Zlotnik A: Identification of a novel chemokine (CCL28), which binds CCR10 (GPR2). *J Biol Chem* 2000, 275:22313-22323
89. Kakinuma, T, Saeki, H, Tsunemi, Y, et al: Increased serum cutaneous T cell-attracting chemokine (CCL27) levels in patients with atopic dermatitis and psoriasis vulgaris. *J Allergy Clin Immunol* 2003 111:592–597, 10.1067/mai.2003.114 | |
90. Shinji Kagami, Takashi Kakinuma, Hidehisa Saeki, Yuichiro Tsunemi, Hideki Fujita, Kiyosaki Sasaki, Koichiro Nakamura, Tomonori Takekoshi, Megumi Kishimoto,

- Hiroshi Mitsui, Mayumi Komine, Akihiko Asahina and Kunihiko Tamaki. Increased Serum CCL28 Levels in Patients with Atopic Dermatitis, Psoriasis Vulgaris and Bullous Pemphigoid. *Journal of Investigative Dermatology* 2005; 124: 1088–1090
91. Alison E. John, Molly S. Thomas, Aaron A. Berlin and Nicholas W. Lukacs.. Temporal Production of CCL28 Corresponds to Eosinophil Accumulation and Airway Hyperreactivity in Allergic Airway Inflammation. *American Journal of Pathology*. 2005;166:345-353.
  92. English K, Brady C, Corcoran P, Cassidy JP, Mahon BP. Inflammation of the respiratory tract is associated with CCL28 and CCR10 expression in a murine model of allergic asthma.. *Immunol Lwtt*, 2006;103(2): 92-100
  93. Jarmin, D. I., M. Rits, D. Bota, N. P. Gerard, G. J. Graham, I. Clark-Lewis, C. Gerard. 2000. Cutting edge: identification of the orphan receptor G-protein-coupled
  94. Humbles AA, Lu B, Friend DS, et al.: The murine CCR3 receptor regulates both the role of eosinophils and mast cells in allergen-induced airway inflammation and hyperresponsiveness. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002, 99:1479-1484.
  95. Mary T. O’Gorman, Noor a. Jatoi, Stephen J. Lane, Bernard P. Mahon. IL-1  $\beta$  and TNF- $\alpha$  induce increased expression of CCL28 by airway epithelial cells via an NF $\kappa$ B-dependent pathway. *Cellular Immunology* 235 (2005)87-96
  96. Kunkel EJ, Kim CH, Lazarus NH, Vierra MA, Soler D, Bowman EP, Butcher EC. CCR10 expression is a common feature of circulating and mucosal epithelial tissue IgA Ab-secreting cells. *J Clin Invest* 2003;111:1001–1010.
  97. Lilly CM, Daugherty BL: A novel LPS-inducible CCR3 activator: why so many CCR3 ligands? *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001, 25:673-675
  98. Stellato C, Brummet ME, Plitt JR, Shahabuddin S, Baroody FM, Liu MC, Ponath PD, Beck LA: Expression of the C-C chemokine receptor CCR3 in human airway epithelial cells. *J Immunol* 2001, 166:1457-1461
  99. Kılıçturgay K: Enflamasyonun Akut Faz Cevabıyla İzlenmesi. *İmmünoloji* 2003; 226-227.
  100. Pepys MB, Berger A. The Renaissance of C- Reactive Protein. *Brit Med J*. 2001; 322: 4-5
  101. Price DT, Loscalzo J. Cellular Adhesion Molecules and Atherogenesis *Am J Med*. 1999; 107:85- 97
  102. Feng L. Role of chemokines in inflammation and immunoregulation. *Immuol Res* 2000; 203- 210
  103. Bacharier LB, Geha RS. Molecular mechanisms of IgE regulation. *J Allergy Clin* 2000; 105: 547-58

104. Oettgen HC, Geha RS. IgE in asthma and atopy:cellular and molecular connections. *J Clin Invest* 1999; 104: 829-35
105. Stefania La Grutta, Rosalia Gagliardo, Franco Mirabella, Giovanni Battista Pajno, Giovanni Bonsignore, Jean Bousquet, Vincenzo Bellia and Antonio Maurizi Vignole. Clinical and Biological Heterogeneity in Children with Moderate Asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* Vol167. pp. 1490- 1495, (2003)
106. LinyingLiu, Nizar N. Jarjour, William W. Buse, Elizabeth A, B. Kelly. Enhanced generation of helper t tip 1 and tip 2 chemokines in allergeninduced asthma. *Allergy and Immunology*. 2003; 1118-1124.
107. Stephanie Senechal, Patricia DE Nadai, Natacha Ralainirina, Arnaud Scherpereel, Han Vorng, Philippe Lassalle, Andre- Bernard Tonnel, Anne Tscopoulos and Benoit Wallaert Effect of Diesel on Chemokines and Chemokine Receptors Involved in Helper T Cell Type 1/ Type 2 Recruitment in Patients with Asthma *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* Vol 168. pp. 215- 221, ( 2003)
108. Mukadder ÇALIKOĞLU, Ali ÜNLÜ, Lülüfer TAMER, İlker ÇALIKOĞLU, C. Gürbüz POLAT. Astımlı Hastalarda Serum Akut Faz Protein Düzeyleri. 2004; 24:5
109. Feng N, Jaimes MC, Lazarus NH, Monak D, Zhang C, Butcher EC, Greenberg HB. Redundant role of chemokines CCL25/TECK and CCL28/MEC in IgA + plasmablast recruitment to the intestinal lamina propria after rotavirus infection. *The Journal of Immunology*. 2006 May 15; 176 (10): 5749- 59.

## ÖZGEÇMİŞ

Filiz DURSUN 1979 yılında Kayseri’de doğdu. 1991 yılında Kayseri Hayriye Dabanoglu İlk Öğretim Okulu’ndan, 1994 yılında Kadı Burhanettin Orta Okulu’ndan, 1998 yılında Kayseri Lisesi’nden mezun oldu. 1998 yılında Erciyes Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde lisans Eğitimine Başladı. 2003 yılında bu bölümden mezun oldu. 2003 yılında Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalında lisans üstü eğitime başladı.

2002 yılında Kalsiyum Bağlayan Proteinler adlı bitirme tezini yazdı. 2003 yılında mikobakteriyoloji laboratuvarında çalıştı. 2004-2006 yıllarında Özel kuruluşlarda ilk yardım ve İngilizce dersleri verdi.