

**T.C.**

**CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**

**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**ÇOCUK İMMÜNOLOJİSİ VE ALLERJİK HASTALIKLARI BİLİM DALI**

**ATOPIK VE NONATOPIK ASTIMLI ÇOCUKLARDA  
YANGISAL SÜREÇTE EOZİNOFİL VE NÖTROFİL  
FONKSİYONLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ**

**ÇOCUK İMMÜNOLOJİSİ VE ALLERJİK HASTALIKLARI**

**YAN DAL UZMANLIK TEZİ**

**Uzman Dr.Ahmet Türkeli**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Hasan YÜKSEL**

**Manisa, 2012**

## ÖNSÖZ

Çocuk İmmünolojisi ve Allerjik Hastalıkları Bilimini tanımamı sağlayan, bu çok zevkli ve geniş alanda eğitim alabilmem için bana her konuda ve her aşamada büyük destek veren, tüm eğitimim boyunca önüme geniş imkanlar ve fırsatlar açan, allerji dışında da genel mesleki ve kişisel ufukumun genişlemesine büyük katkısı olan, öğrencisi olmaktan gurur duyduğum, Alerji Bilim Dalı Başkanı, Sayın Hocam Prof. Dr. Hasan YÜKSEL'e

Klinik ve tez çalışmalarım sırasında yardımlarını ve dostluğunu esirgemeyen çalışkan, fedakar, değerli arkadaşım Yard. Doç. Dr. Özge Yılmaz' a

Tezi hazırlamamda aktif olarak yardım eden, bana destek olan, yoğun çalışma temposuna rağmen olguların toplanmasında yardımcı olan değerli arkadaşım Uzman Dr. Esra TORAK KANIK' a

Olguların toplanmasında yardımcı olan pediatri asistanları Dr. Bilge KORKMAZ, Dr. Türker BORUCU, Dr. Ezgi YANGIN ERGON ve Dr. Mete Han KIZILKAYA' ya

Laboratuvar çalışmalarında yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Fatma TANELİ ve Dr. Ceyhun GÖZÜKARA' ya

Deri prik testi ve solunum fonksiyon testlerinin yapılmasında yardımcı olan Poliklinikte birlikte çalıştığımız, değerli, fedakar ve çalışkan kardeşim sağlık memuru Özgür KAÇMAZ'a

Çalışmalarımın her aşamasında gösterdikleri yakın ilgi ve yardımları için teşekkür ederim.

Dr. Ahmet TÜRKELİ

Manisa -2012

ÖNSÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ŞEKİL DİZİNİ.....	IV
TABLolar DİZİNİ .....	V
KISALTMA VE SEMBOLLER DİZİNİ .....	VI
ÖZET .....	IX
İNGİLİZCE ÖZET .....	XI

	Sayfa
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	3
2.1. Astımın Tanımlanması.....	3
2.2. Astımın prevalansı ve insidansı.....	4
2.3. Astımın Etiyolojisi.....	5
2.3.1. Astım gelişimini etkileyen faktörler.....	5
2.3.1.1. Kişisel Risk Faktörleri.....	6
2.3.1.2. Çevresel Faktörler.....	8
2.4. Astım Patogenezi ve Patofizyolojisi.....	12
2.4.1. Astımda Havayolu Daralması.....	13
2.4.2. Havayolu Aşırı Duyarlılığı.....	13
2.4.3. Özel Mekanizmalar.....	14
2.4.4. Astımda Havayolu Enflamasyonu.....	15
2.4.4.1. Astımlı Havayolundaki İnflamatuvar Hücreler.....	15
2.4.4.2. Astımda Enflamatuvar mediyatörler.....	19
2.4.4.3. Astım patogeneziinde Proteinaz/Antiproteinazlar.....	24
2.4.4.4. Astımda Havayollarında Bulunan Yapısal Hücreler.....	25
2.4.4.5. Astımda immünopatogenez.....	30
2.4.4.6. Astım subfenotiplerinde yeni T hücre kümeleri.....	34
2.4.4.7. Astımda Havayolu Moleküler Fenotipi.....	34
2.4.4.8. Astımda Havayolu Epitel Değişiklikleri.....	36
2.4.4.9. Astımda Havayolundaki Yapısal Değişiklikler.....	38
2.5. Astım Tanısı.....	40
2.5.1. Öykü.....	40
2.5.2. Fizik Muayene.....	41
2.5.3. Radyografik Tetkikler.....	41
2.5.4. Astımda Tanı ve İzleme Testleri.....	42
2.5.4.1. Solunum fonksiyon testleri.....	42
2.5.4.2. Bronş Provokasyon Testleri (BPT).....	43
2.5.4.3. Allerjen Duyarlılığının Gösterilmesi.....	44
2.5.5. Solunum yolu inflamasyonunu gösteren noninvaziv testler ve belirteçler.....	46
2.5.6. Diğer tanısal tetkikler.....	47

2.6. Astım Sınıflandırması.....	47
2.6.1. Astımın Kontrol Düzeyine Göre Sınıflanması.....	47
2.7. Çocuklarda Astım İlaçları ve Tedavisi.....	48
2.7.1. Astım İlaçları.....	48
2.7.1.1. Kontrol edici ilaçlar.....	49
2.7.1.2. Rahatlatıcı ilaçlar.....	51
2.7.3. Allerjene özgü immunoterapi.....	52
2.8. Astım Tedavisi, Kontrolü ve Korunma.....	53
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>	<b>56</b>
3.1. Çalışma Gurubu.....	56
3.2. Çalışma Dizaynı ve Etik kurul.....	57
3.3. Data Toplama.....	57
3.3.1. Total eozinofil Ölçümü.....	58
3.3.2. Total Ig E ölçümü.....	58
3.3.3. Solunum Fonksiyon Testi.....	58
3.3.4. Astım Şiddetinin Değerlendirilmesi.....	58
3.3.5. Allerjen Deri Prik Testi.....	58
3.3.6. Yoğunlaştırılmış Nefes Havaının Elde Edilmesi ve Çalışılması.....	59
3.3.6.1. Soluble E-Cadherin (sE-Cadherin) ölçümü.....	59
3.3.6.2. Yoğunlaştırılmış nefes havasında IL-5 ölçümü.....	60
3.3.6.3. Yoğunlaştırılmış nefes havasında CXCL8/IL8 ölçümü.....	60
3.3.6.4. Yoğunlaştırılmış nefes havasında MMP-9 ölçümü.....	60
3.4. İstatistiksel Analiz.....	60
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>62</b>
4.1. Sosyodemografik Özellikleri.....	62
4.2. Hasta gruplarının astım şiddetine göre dağılımı.....	63
4.3. Hasta gruplarının astım klinik ve medikasyon durumuna göre Dağılımı.....	63
4.4. Solunum Fonsiyon Testi değerleri.....	63
4.5. Atopik astımlı hastalarda allerjen dağılımı.....	64
4.6. Hasta gruplarının EBC’ deki IL-5, IL-8, MMP-9 ve sE-cadherin değerleri.....	65
4.7. Atopik astımlı hastalarda allerjen türü ile EBC’ de IL-5, IL-8, MMP-9 ve sE-cadherin medyan ve interkuartil aralıklarının karşılaştırılması.....	67
4.8. IgE, eozinofil sayısı, IL-5, IL-8, MMP-9 ve E-cadherin değerlerinin çapraz karşılaştırılması.....	69
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>73</b>
<b>6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....</b>	<b>85</b>
<b>7. KAYNAKLAR.....</b>	<b>87</b>

## ŞEKİLLER

<b>Şekil 1.</b> Havayolu inflamasyonu ve klinik bulgular arasındaki etkileşim ve astım patofizyolojisi.....	13
<b>Şekil 2.</b> Kemik iliği ve havayolu duvarında CD34 precursorlarından eozinofillerin toplanması ve maturasyonunda rol alan Th2 sitokinler.....	18
<b>Şekil 3.</b> Epitel TJs bileşenlerinin şematik görünümü.....	27
<b>Şekil 4.</b> Epitel hücrelerinde immünolojik fonksiyon ve bariyer fonksiyonunun integratorü olarak E-cadherinin rolü.....	37
<b>Şekil 5.</b> Persistan inflamasyon ve Havayolu duvarı remodellinginde epitelial-mezenşimal iletişim ilişkisi (epithelial-mesenchymal trophic unit).....	39
<b>Şekil 6.</b> 5 yaş üzerindeki çocuk ve erişkinlerde kontrole dayalı tedavi yaklaşımı .....	55
<b>Şekil 7.</b> Atopik ve nonatopik astımlı hastalarda EBC’ de IL-5 değerleri.....	64
<b>Şekil 8.</b> Atopik ve nonatopik astımlı hastalarda EBC’ de MMP-9 değerleri.....	68
<b>Şekil 9.</b> Atopik ve nonatopik astımlı hastalarda EBC’ de sE-cadherin değerleri.....	68
<b>Şekil 10.</b> IgE ile sE-cadherin arasındaki korelasyon.....	70
<b>Şekil 11.</b> IL-8 ile MMP-9 arasındaki ilişki.....	71
<b>Şekil 12.</b> IL-8 ile e-cadherin arasındaki ilişki.....	71
<b>Şekil 13.</b> MMP-9 ile sE-cadherin arasındaki ilişki.....	72

## TABLÖLAR

<b>Tablo 1.</b> Astımın ortaya çıkışı ve gelişimi için risk faktörleri.....	5
<b>Tablo 2.</b> Deri prik testi sonuçlarının değerlendirilmesinde Patterson skalası.....	45
<b>Tablo 3.</b> Astımın şiddetine göre sınıflanması .....	48
<b>Tablo 4.</b> Astımın kontrol düzeyleri.....	49
<b>Tablo 5.</b> Çalışmaya alınan hasta verilerinin sosyodemografik özellikleri.....	62
<b>Tablo 6.</b> Çalışmaya alınan hastaların astım şiddetine göre dağılımı.....	63
<b>Tablo 7.</b> Çalışmaya alınan hastaların astım klinik ve medikasyon durumuna göre dağılımı.....	64
<b>Tablo 8.</b> Çalışmaya alınan hastaların solunum fonksiyon testi değerleri.....	65
<b>Tablo 9.</b> Çalışmaya alınan atopik astımlı hastaların duyarlı oldukları alerjenlere göre dağılımı.....	65
<b>Tablo 10.</b> Çalışmaya alınan atopik astımlı hastaların serum immünglobulin E düzeyleri ve eozinofil sayıları.....	66
<b>Tablo 11.</b> Çalışmaya alınan hastalarda EBC’ de IL-5, IL-8, MMP-9 ve E-cadherin değerleri.....	66

## KISALTMALAR ÇİZELGESİ

BHR	Bronş hiperreaktivitesi
IgE	İmmünglobülin E
Th	T helper
IL	İnterlökin
LPS	Lipopolisakkarit
TNF- $\alpha$	Tümör nekrotizan faktör-alfa
RSV	Respiratuvar Sinsitiyal Virüs
HRV	Human rhinovirus
ÇSD	Çevresel sigara dumanı
ÜSYE	Üst solunum yolu enfeksiyonu
ASYE	Alt solunum yolu enfeksiyonu
İNKT	İnvaryant natürel killer T hücre
Fc $\epsilon$ RI	Yüksek afiniteli IgE reseptörleri
LT	Lökotrien
PGD <sub>2</sub>	Prostoglandin D <sub>2</sub>
TGF- $\beta$	Transforming growth faktör- $\beta$
FGF	Fibroblast büyüme faktörü
DH	Dendritik hücre
BAL	Bronkoalveoler lavaj
GM-CSF	Granülosit monosit stimülan faktör
ICAM-1	İnterselüler adezyon molekül 1
VCAM-1	Vasküler selüler adezyon molekül-1
VLA-4	Vary late antijen-4
PAF	Platelet activating factor
RANTES	Regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted
MCP-4	Monosit kemoatraktant protein-4
İKS	İnhaler kortikosteroid
TXA <sub>2</sub>	Tromboksan A <sub>2</sub>
IFN- $\gamma$	İnterferon-Gama
STAT-6	Signal Transducer and Activator of Transcription 6
IL-5R	İnterlökin-5 reseptörü

CXC, CC,C	Kemokin
CCL	Kemokin ligand
MIP	Macrophage inhibitory protein
NO	Nitrik oksit
TARC	Thymus and activation-regulated chemokine
MMP	Matriks metalloproteinazlar
TIMP	Metalloproteinaz doku inhibitörü
ECM	Ekstraselüler matriks
TJs	Tight junctions-sıkı bağlar
IJ	Intermediate junctionlar
ZO	Zonula occludens
JAM	Junction adhesion molecule
AJ	Aherans junction
NF-κB:	Nükleer faktör kappa B
T reg	Reglatuvar T hücre
TLR	Toll like reseptör
PAR	Proteaz aktive reseptör
CLR	C-tip lektin reseptörler
TSLP	Timik stromal lenfopoietin
CCR	Kemokin reseptörü
NLR	Nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon domain-like reseptörler
CTLA-4	Sitotoksik T-lenfosit antigen-4
FcεRII	Düşük afiniteli IgE reseptörü
PAMP	Pathogen-associated molecular patterns
DAMP	Danger-associated molecular patterns
ASİ	Spesifik alerjen immünoterapi
Foxp3	Forkhead box protein 3
GATA3	GATA-binding protein 3
RORγt	Retinoic acid-related orphan receptor γt
MBP	Major basic protein
ECP	Eozinofil katyonik protein
Derp-1	Dermatophagoides pteronyssinus-1
AP-1	Aktivato Protein-1



HDM	House dust mites
EMTU	Epitelyal mezenşimal trofik unite
PDGF	Platelet derived growth factör
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
FEV1	1. Saniyedeki zorlu ekspiratuvar volüm
FVC	Zorlu ekspiratuvar kapasite
PEF	Tepe ekspiratuvar akım
EBC	Yoğunlaştırılmış nefes havası (Ekshaled breath condensate)
GINA	Global initiative for Asthma
sE-Cadherin	Soluble E-Cadherin
EGFR	Epidermal growth factor receptor
EMT	Epitelyal mezenşimal transition

## ÖZET

### ATOPIK VE NONATOPIK ASTIMLI ÇOCUKLARDA YANGISAL SÜREÇTE EOZİNOFİL VE NÖTROFİL FONKSİYONLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

**Giriş:** Astım yapısal değişikliklerin de eşlik ettiği birçok hücre ve hücresel elementin rol aldığı havayollarının kronik inflamatuvar bir hastalığıdır. Havayollarındaki inflamasyon paterni bütün klinik formlarında ve bütün yaş gruplarında benzer görünmektedir. Astımda görülen periferik kan ve havayolları sekresyonlarında eozinofil sayılarındaki artış astımın karakteristik özelliğidir. Atopik astımlı bireylerin, CD4+ Th2 hücreler tarafından salgılanan Th2 sitokinlere bağlı olarak havayollarına eozinofiller toplanır ve IL-5' in eozinofilik inflamasyonda önemli rol oynadığı düşünülmektedir. Havayollarındaki nötrofil sayısı astımın astım şiddetiyle doğru orantılı olarak artmaktadır ve IL-8 burada önemli rol oynamaktadır. Havayolu epiteli yapısındaki sıkı bağlar nedeniyle geçirgen değildir ancak astımda bu geçirgenliğin belirgin derecede arttığı, allerjen ve iritanların havayollarında bazal tabakaya daha kolay ulaştığı ve daha fazla doku hasarına neden olduğu görülmektedir. Bu çalışmada atopik ve nonatopik astımı olan çocuklarda nötrofilik ve eozinofilik yangı karşılaştırılması için IL-8 ve IL-5, doku hasarını göstermek için MMP-9 ve epitelyal hasarı göstermek için soluble E-cadherin yoğunlaştırılmış nefes havasında çalışılacaktır.

**Yöntem:** Bu çalışmaya Celal Bayar Üniversitesi Çocuk İmmünolojisi ve Allerjik Hastalıkları polikliniği'ne başvuran 39 atopik 39 nonatopik astım tanısı alan toplam 78 hasta alındı. Allerjen deri prik testinde proteaz özelliği olan aeroallerjenlerden en az bir tanesi pozitif olan (Ev tozu akarları, mantar karışım ve zeytin) hastalar atopik astım gurubunu oluşturdu. Aeroallerjenlerle yapılan deri prik testi negatif olarak saptanan olgular nonatopik astım gurubunu oluşturdu. Nonatopik gruptaki hastalar atopik gruptaki hastaların yaşlarıyla bire bir eşleşecek şekilde çalışmaya dahil edildi. Çalışmaya alınan çocukların tamamından IgE için serum örneği ve eozinofil sayısı için hemogram örnekleri alındı ve aynı gün ölçümleri yapıldı. Benzer şekilde aynı gün IL-5, IL-8, MMP-9 ve E-cadherin ölçümleri için yoğunlaştırılmış nefes havası örneği elde edildi ve çalışmanın sonunda değerlendirilmek üzere -80°C de muhafaza edildi.

**Bulgular:** Yoğunlaştırılmış nefes havasında akciğer hasar parametrelerinden olan MMP-9 düzeylerinin atopik astımlı çocuklarda nonatopik astımlı çocuklara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Benzer şekilde yoğunlaştırılmış nefes havasında epitel bariyer komponentlerinden biri olan sE-cadherin düzeyleri de atopik astımlı çocuklarda nonatopik olanlara göre yüksek bulunmuştur. Ancak IL-5 ve IL-8 düzeylerinin atopik ve nonatopik astımlı çocuklardan elde edilen yoğunlaştırılmış hava örneklerinde farklı olmadığı gözlenmiştir.

**Sonuç:** MMP-9 düzeyinin atopik astımlı hastalar nonatopik astımlı hastalarla karşılaştırıldığında yoğunlaştırılmış hava örneklerinde daha yüksek seviyelerde olması ve IL-8 ve sE-cadherin düzeyleri ile anlamlı korelasyon göstermesi proteaz özelliği olan allerjenlerin daha fazla doku hasarına, daha fazla inflamatuvar sitokin salınımına ve remodellinge yol açtığını desteklemektedir. sE-cadherin düzeyinin atopik astımlı çocuklarda nonatopik astımlı çocuklara göre daha yüksek saptanması istatistiksel analiz anlamlı farklılık saptanmasa da p değeri 0.08 ile anlama oldukça yakın olduğu göz önüne alınırsa ve IL-8 ile sE-cadherin arasında pozitif korelasyon olması allerjen maruziyetine bağlı olarak atopik astımlılarda inflamasyonun daha şiddetli olduğu ve epitelyal fragilitenin, epitelyal dökülmenin atopik astımlılarda daha fazla olduğunu desteklemektedir. Astımlı çocuklarda allerjik inflamasyon belirteçlerini gösterme açısından klasik invaziv yöntemlere alternatif olarak noninvaziv bir yöntem olan yoğunlaştırılmış nefes havasının kullanılabilmesi ve bundan sonra yapılacak olan çalışmalarda yoğunlaştırılmış nefes havasının kullanılabilmesi gösterilmiştir..

**Anahtar Sözcükler:** Astım, EBC, sitokin, epitelyal bariyer

## SUMMARY

### EVALUATION OF EOSINOPHILIC AND NEUTROPHILIC FUNCTIONS DURING INFLAMMATORY PROCESSES IN ATOPIC AND NONATOPIC ASTHMATIC CHILDREN

**Introduction:** Asthma is a chronic inflammatory disease of the airways, accompanied by structural changes in many cells and in which cellular elements play a part. The pattern of inflammation in the airways seems to be similar in all age groups in all clinical forms. The increase in the number of eosinophils in the peripheral blood and secretions in the airway is a characteristic of asthma. In the individuals with atopic asthma, the eosinophils are collected in the airway depending on the Th2 cytokines secreted by CD4 + Th2 cells. IL-5 is thought to play an important role in the eosinophilic inflammation. The number of neutrophils in the airways increase proportionally with the severity of asthma and IL-8 plays an important role in this process. The airway epithelium is not permeable because of the close ties in its structure, but in asthma, the permeability is significantly increased causing the allergens and the irritating agents to reach the basal layer more easily and resulting in more tissue damage. In this study, in order to compare the neutrophilic and eosinophilic inflammation in children with atopic and non-atopic asthma the IL-8 and the IL-5; in order to demonstrate the tissue damage the MMP-9, and to demonstrate the epithelial injury, the and soluble E-cadherin in condensed breathing air will be studied.

**Method:** A total of 78 patients who were diagnosed with atopic asthma (n=39) and non-atopic asthma (n=39) at Celal Bayar University, Department of Pediatric Immunology and Allergic Diseases, were included in the study. The atopic asthma group consisted of patients with a positive allergen skin prick test with at least one proteolytic aeroallergen (house dust mites, yeast mixture and olive). The non-atopic asthma group consisted of patients with a negative skin prick test with aeroallergens. The patients in the non-atopic asthma group were included in the study with a one to one matching with the patients in the atopic asthma group in terms of age. On the day that the children were included in the study, serum samples for IgE, and complete blood count to determine the eosinophil count were obtained. The measurements were performed on the same day. Similarly, on the same day, the samples for IL-5, IL-8, MMP-9 and condensed breathing air sample for the

measurement of E-cadherin were obtained and were stored at -80°C to evaluate at the end of the study.

**Results:** The MMP-9 levels were found to be higher compared in children with atopic asthma compared to the children with non-atopic asthma, in the condensed breathing air samples. Similarly, the E-cadherin levels, which is a parameter of lung injury, was also higher in these children. However, the IL-5 and the IL-8 levels in the condensed breathing air samples were not different in children with atopic and non-atopic asthma.

**Conclusion:** The higher MMP-9 levels in patients with atopic asthma, in the condensed breathing air samples, and its significant correlation with the IL-8 and sE-cadherin levels show that the proteolytic allergens cause more tissue damage, inflammatory cytokine release and remodeling. There were no significant statistical differences between the groups in terms of sE-cadherin levels. However the children with atopic asthma had a 0.08 p-value, which was very close to be significant. Considering this fact, and the positive correlation between the IL-8 and the sE-cadherin, it can be postulated that the inflammation due to the exposure to allergens in atopic asthma is more severe and the epithelial fragility and spill are higher in this group.

As markers of allergic inflammation in asthmatic children, EBC can be used as a noninvasive alternative to the invasive procedures. It can also be used in the future studies.

**Key words:** Asthma, EBC, Cytokine, epithelial barrier

## 1.GİRİŞ

Astım yapısal değişikliklerin de eşlik ettiği bir çok hücre ve hücresel elementin rol aldığı havayollarının kronik inflamatuvar bir hastalığıdır. Semptomlar epizodik olsa da astımdaki havayolu inflamasyonu sürekli dir. Havayollarındaki inflamasyon paterni, allerjik, nonallerjik veya aspirinle indüklenen olmak üzere astımın bütün klinik formlarında ve bütün yaş gruplarında benzer görünmektedir. Astımdaki inflamasyonda Th2 hücreler hakimdir. Astımda temel özellik havayolunun tanımlanmış çevresel allerjenlere, Th2 lenfositlerden kaynaklanan kemokinler ve sitokinlerin cevabının baskınlığıdır.

Epitel havayolunun en önemli fiziksel bariyerini oluşturur. Hücreler arasındaki sıkı bağlar (tight junctionlar) nedeni ile geçirgen değildir ancak astımda bu geçirgenliğin belirgin derecede arttığı, allerjen ve iritanların havayollarında bazal tabakaya daha kolay ulaştığı görülmektedir.

Hem atopik hem de nonatopik astımda bronşiyal biyopsi örneklerinde, hafif astımda bile eozinofilik havayolu inflamasyonu olduğu gösterilmiştir. Özellikle viral indüksiyon ile tetiklenen bulguları olan şiddetli astımlı bazı olgularda balgam ve bronkoalveoler yıkama sıvısında nötrofillerin baskın olduğu görülmüştür.

Astım kontrolü klinik semptomlar ve solunum fonksiyon testi ile yapılır. Havayolu inflamasyonunu değerlendirmek için birçok invaziv teknik vardır. Ancak astımlı hastalarda akciğer inflamasyonunu göstermek için noninvaziv metodlarda eksiklik vardır. Yoğunlaştırılmış nefes havası birçok farklı çalışmada, çocuklardaki solunum yolu hastalıklarına özgü göstergelerin değerlendirilmesi için noninvazif bir yöntem olarak kullanılmış ve güvenilirliği gösterilmiştir.

Bu çalışmada atopik ve nonatopik astımı olan çocuklarda nötrofilik ve eozinofilik yangı karşılaştırılması, havayolu epitel bütünlüğü ve akciğer hasarı parametreleri incelenecek ve karşılaştırılacaktır. Eozinofilik yangıyı değerlendirmek için interlökin-5, nötrofilik yangıyı değerlendirmek için interlökin-8, doku hasarını göstermek için matriks metalloproteinaz 9, epitelyal hasarı göstermek için epitelyal cadherine yoğunlaştırılmış nefes havasında çalışılacaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Astımın Tanımlanması

Astım yapısal değişikliklerin de eşlik ettiği kronik havayolu inflamasyonu ile karakterize epizodik bronkokonstriksiyonun eşlik ettiği hastalıktır. Özellikle geceleri olan ve sıklıkla öksürüğün eşlik ettiği nöbetler halinde olan nefes darlığı klinik tablonun baskın özellikleridir. En sık klinik bulgu akciğer oskültasyonunda saptanan hışıltıdır. Astımın başlıca fizyolojik özelliği hava akımı kısıtlanması ile karakterize havayolu daralmasıdır. Astım oluşumunda genetik ve çevresel faktörler rol oynamaktadır, fakat patogenezi tam olarak açıklığa kavuşamadığından tanımı büyük ölçüde hastalık özelliklerini tarif edici niteliktedir. Havayolu inflamasyonunun yol açtığı fonksiyonel değişikliklere göre yapılan astım tanımı şöyledir: Astım bir çok hücre ve hücreyel elementin rol aldığı havayollarının kronik inflamatuvar bir hastalığıdır. Kronik inflamasyon, özellikle gece veya sabahın erken saatlerinde ortaya çıkan tekrarlayıcı hışıltılı solunum, nefes darlığı, göğüste sıkışma hissi ve öksürük ataklarına neden olan havayolu aşırı duyarlılığı ile ilişkilidir. Bu ataklar kendiliğinden veya tedavi ile geri dönüşlü, değişken bir havayolu obstrüksiyonu ile birlikte dir.

Astım fenotipleri açık olarak tanımlanmamıştır, araştırmacılar bu kompleks hastalığın gelişiminde objektif olarak ölçülebilen atopi (sık görülen çevresel allerjenlere karşı klinik yanıtın gösterilmesi ya da pozitif deri testinin varlığı), havayolu aşırı duyarlılığı (normal bireylerde tetikleyicilere karşı yanıtın çok az ya da hiç olmadığı havayollarının aşırı daralma eğiliminde olması) ve allerjik duyarlanmayı gösteren diğer ölçümler gibi karakteristikleri saptamak için çalışmaktadırlar. Her ne kadar astım ve atopi ilişkisi iyi tanımlanmışsa da bu iki durum arasındaki kesin bağlantı henüz tam olarak açık değildir ve kapsamlı olarak tanımlanmalıdır.



Günümüzde astımın seyri hakkında iyi kanıtlar vardır (semptomlar, uyku bozukluğu, günlük aktivite kısıtlaması, akciğer fonksiyonlarında bozulma ve kortikosteroid ilaç kullanımı) ve yoğun tedavi ile hastalık kontrol edilebilmektedir. Astım kontrol edildiğinde bulguların tekrarı fazla olmayacaktır ve şiddetli ataklar daha az görülecektir (1-3).

## 2.2. Astımın prevalansı ve insidansı

Astım çocukluk çağının en sık görülen kronik hastalığıdır (4). Astım prevalansı çocukluk çağında erkeklerde kızlardan daha yüksektir ancak adolesan dönemde cinsiyet farkı değişir, adult dönemde ise astım prevalansı kadınlarda erkeklerden daha yüksek olur (5,6). Hafif astımı ve wheezingi olan bazı çocuklar tamamen iyileşirken özellikle allerjik duyarlanma, şiddetli astımı ve hışıltısı çocuklarda hastalık yetişkinlikte de devam eder. Erken allerjik duyarlanma persistan astım için önemli bir risk faktörüdür ve hayatın ilk yıllarında allerjene maruz kalma önemli bir odak noktası oluşturmaktadır (7).

Astımın dünyada 300 milyondan fazla kişiyi etkilediği tahmin edilmektedir (1). Astım prevalansı ile ilgili veriler ülkelere, kullanılan yöntemlere, ırka, coğrafi bölgelere ve çevresel etkenlere göre değişmektedir. Pek çok çalışmada astım prevalansının arttığı gösterilmişken birkaç çalışmada da prevalansın değişmediği ya da azaldığı bildirilmiştir. Bu, farklı yöntemlerin kullanılmasına, tanı farklılıklarına ve/veya semptomların farkındalığının artmasına ve doktorların astım tanısı koyma isteklerine bağlı olabilir (5).

Çocuklarda astım epidemiyolojisinde yeni araştırmalar Uluslararası Çocukluk Çağı Astım ve Allerjik Hastalıklar Çalışması (ISAAC-International study of asthma and allergies in childhood) programının geliştirilmesini içerir. Burada astım semptomlarının prevalansı dünyada büyük farklılıklar göstermiştir. Astım prevalansındaki artış trendi düşük prevalans merkezlerindeki artış ve yüksek prevalanslı merkezlerdeki azalma veya plato çizme, karışık bir tablo çizmektedir (8).

Çocuklarda ve erişkinlerde astım ve hışıltılı solunum hastalığının prevalansını ölçmek için uygulanan standartlaştırılmış yöntemlere dayanılarak, astımın küresel prevalansının dünyanın farklı ülkelerinde yaşayan toplumlarda %1 ile %18 arasında değiştiği tahmin edilmektedir (9). Ülkemizde 27 ilden 46.813 çocuk olgu ile yapılan bir çalışmada kümülatif astım prevalansı %2,8-14,7 hışıltılı çocuk prevalansı %3,4-15,1 arasında saptanmıştır (10). Yüksel ve arkadaşlarının, Uluslararası Çocukluk Çağı Astım

ve Allerjik Hastalıklar Çalışmasında (ISAAC protokolü ile) 3-17 yaş arası astım prevalansı %14,7 olarak bulunmuştur (11). 1995 yılında 6-12 yaş arasında 2387 okul çocuğuna ISAAC protokolü uygulanmış ve aynı yaş gurubuna aynı mevsimde 2004 yılında anket yeniden uygulanmış ve astım prevalansının %9,8 den %17,8 e arttığı saptanmıştır (12). Özellikle batı tipi yaşam tarzına sahip kentsel bölgelerde artışın daha fazla olduğu görülmüştür. Tahminlere göre 2025 yılında mevcut astımlı sayısına 100 milyon kişi daha eklenecektir (9). Astım prevalansı ile bazı sosyo-ekonomik değişkenler arasında ilişkiye bakıldığında aile geliri düşük olanlarda astım pevalansının daha yüksek olduğu gözlenmiştir (13).

### 2.3. Astımın Etiyolojisi

#### 2.3.1. Astım gelişimini etkileyen faktörler

Astım için risk etkenleri kişiye ait etkenler ve çevresel etkenler olarak iki grupta değerlendirilmektedir (Tablo 1). Bu etkenlerin yanısıra astım semptomlarını tetikleyen faktörler de vardır (1).

**Tablo 1.** Astımın ortaya çıkışı ve gelişimi için risk faktörleri

<b>KİŞİSEL ETKENLER</b>	Genetik: Atopi Bronş hiperreaktivitesi (BHR)
	Cinsiyet
	Obezite
<b>ÇEVRESEL ETKENLER</b>	Allerjenler: İç ortam Dış ortam
	İnfeksiyonlar
	Mesleki duyarlılaştırıcılar
	Sigara
	Hava kirliliği: İç ortam Dış ortam
	Diyet

Fakat astımın ortaya çıkması ve gelişmesini etkileyen mekanizmalar komplekstir ve birbirleri ile etkileşim içindedir. Örnek olarak astıma yatkınlık; genlerin hem diğer genlerle, hem de çevresel faktörlerle olası etkileşimi sonucunda belirlenir. Bunun yanında gelişimsel yönden bakılacak olursa örneğin immün sisteminin olgunlaşması ve yaşamın ilk yıllarında enfeksiyon ile karşılaşmanın zamanlaması genetik yatkınlığı olan bireylerde astım gelişimi açısından önemlidir (14,15).

### **2.3.1.1. Kişisel Risk Faktörleri**

#### ***a. Genetik faktörler***

Astımın genetik bir unsuru vardır ama bu basit değildir (1). Herediter faktörlerin astım ve havayolu duyarlılığı gelişiminin %30-66'sında rol oynadığı görülmüştür (16). Genetik özellikler tek başına ele alındığında genel olarak astım % 5-10 oranında görülürken ebeveynlerin birinde astım öyküsü olması çocukta astım riskini iki katına, her ikisinde de astım olması ise bu riski dört katına kadar artırmaktadır (17,18).

Güncel veriler astım patogenezinde birden çok genin yer alabildiğini ve farklı etnik gruplarda farklı genlerin sorumlu olabileceğini göstermektedir (18,19). Atopiye yatkınlık sağladığı gösterilmiş bazı genler olmasına karşın klasik mendelian tek gen bozukluklarındaki seyri göstermez (20).

Son yıllarda moleküler yöntemlerde olan gelişmeler sayesinde, astımın genetiği ile ilgili yapılan çalışmalar oldukça artmış ve yaklaşık yüz kadar genin astım ve atopi fenotipi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (21). Astım genlerinin bazıları koruyucu özellik gösterirken, büyük çoğunluğu astım patogenezinde katkıda bulunmaktadır.

Astım gelişimiyle ilgili genlerle yapılan araştırmalar dört temel alana odaklanmaktadır (1).

- 1) Allerjene spesifik immünglobülin E (IgE) antikor üretimi (atopi)
- 2) Havayolu aşırı duyarlılığında etkili olan genler
- 3) İnflamatuar mediatörlerin sentezini etkileyen genler (sitokinler, kemokinler ve büyüme faktörleri)
- 4) T helper1 (Th1) ve Th2 immün cevap arasındaki dengenin belirlenmesi (hijyen hipotezi ile ilişkili olarak) (22).

Artmış bir total serum IgE düzeyi oluşturma eğilimi ile havayolu aşırı duyarlılığı kalıtsal olarak birlikte edinilmekte ve hava yolu duyarlılığını yöneten bir gen (ya da

genler), kromozom 5q üzerinde serum IgE düzeylerini düzenleyen majör bir gen bölgesinin yakınında yer almaktadır (19). 5q bölgesindeki en az 14 genin astım ve atopi ile birlikteliği bildirilmiştir. İnterlökin-4 (IL-4), IL-13, CD14, ADRB2, SPINK5 ve LTC4S bu genlerin en önemlileridir (21). IL-4 gen bölgesi olarak adlandırılan bu bölge, serum IgE yüksekliği ile ilişkili bulunmuştur. Bakteri duvarında bulunan lipopolisakkaritler (LPS), antijen sunan hücrelerden IL-12 salınımını uyarmakta ve Th1 yanıtını güçlendirmektedir. Monosit, makrofaj ve polimorf nükleer hücrelerin yüzeyinde yer alan CD14 molekülü güçlü bir LPS reseptörüdür ve immün yanıtın Th1 yönüne kaymasında önemli işlevi bulunmaktadır. Bu nedenle 5. kromozom üzerinde yerleşen CD14 geni astım gelişiminde önem kazanmaktadır (23).

2002 yılında, 20. kromozom üzerinde yer alan ve metalloproteinaz ailesinin bir üyesi olan ADAM33 geni (kromozom 20p) ile astım ve bronş aşırı duyarlılığı arasında ilişki tanımlanmıştır (24).

Ancak atopiye ve astıma yatkınlık yaratan özgül bir gen veya genler üzerindeki çalışmalar devam etmektedir çünkü bugüne kadar alınan sonuçlar birbirini tutmamaktadır (18).

Astıma yatkınlık yaratan genlere ek olarak astım tedavisine yanıt ile ilişkili genler de vardır. Örneğin,  $\beta$ -adrenoreseptörünü kodlayan gendeki varyasyonlar hastaların  $\beta_2$  agonistlerine verdikleri yanıtlardaki farklılıklarla ilişkilendirilmiştir (25). Bu genetik göstergeler olasılıkla yalnızca astım patogenezinde yer alan risk faktörleri olarak değil, aynı zamanda tedaviye yanıtın belirleyicileri olarak da önemli olacaktır (1).

### ***b. Cinsiyet***

Astım erken çocukluk döneminde erkek çocuklarda kız çocuklarına göre iki kez daha fazla görülmektedir. Cinsiyetler arasındaki prevalans adölesans boyunca eşitlenir sonra erişkin dönemde kadınlarda daha fazla görülmeye başlar (26). Cinsiyete bağlı bu farklılıkların nedeni açık değildir (27). Hormonal durum büyük olasılıkla astım oluşma riskini etkileyen faktörlerden biri olarak değerlendirilmiştir; cinsiyet farklılığına bağlı olarak doğumda erkeklerde daha küçük olan akciğer hacminin ve solunum yolu boyutunun erişkin dönemde kadınlardan daha büyük olması ve akciğerlerin büyüme hızı potansiyel bir alternatif açıklama olarak öne sürülmüştür (27,28). Adolesan döneminden itibaren ve erken

pubertenin kızlarda daha sık görülmesi astım sıklığının artışı için önemli nedenler olarak gösterilmektedir. Adolesan döneme benzer şekilde erişkin dönemde de kadınlarda astım daha sık görülmektedir (29).

### *c. Obezite*

Çocukluk çağı obezitesi prevalansı son 50 yılda üç kattan daha fazla artmıştır. Obezite astımın şiddetini artırabilir ama aralarında direkt bağlantı kurmak zordur (28). Astım obez kişilerde daha sıklıkla gözlenmektedir (BMI 30kg/m<sup>2</sup>) ve kontrolü daha güçtür. Astımlı obez kişiler astımlı normal kilolu kişilerle karşılaştırıldığında daha az akciğer kapasitesine ve daha fazla komorbiditeye sahiptirler.

Obezitenin astım gelişimini nasıl teşvik ettiği halen belirsizdir. Obezitenin havayolu fonksiyonlarını akciğerleri mekanik olarak etkileyerek, proinflamatuvar durum geliştirerek etkilediği ileri sürülmektedir. Obezler azalmış ekspiratuvar rezerv volüme sahiptirler. Obez kişilerde bunun yanında adipositlerden IL-6, TNF- $\alpha$ , eotaxin ve leptin gibi çeşitli proinflamatuvar sitokin ve mediatörler salınarak sistemik inflamatuvar durum oluşur, bunda havayolu fonksiyonlarını nasıl etkilediği bilinmemektedir (30, 31).

### *d. Atopi*

Çocukluk çağında atopi ile hışıltı atakları arasında yakın ilişki vardır. Atopi astımlı çocukların %25 ile %63' ünde görülürken erişkinlerde ise %8 ile %55 arasında değişmektedir (32). Benzer şekilde ailede atopi varlığı da çocuklarda astım gelişimi açısından önemli bir risk faktörüdür (16). Atopiyi değerlendirmek için yapılan bir çalışmada total serum IgE düzeyleri ile astım gelişimi arasındaki ilişki incelenmiş, IgE düzeyinin <32 IU/mL olması durumunda astıma rastlanmamış, total IgE düzeyi 1000 IU/mL olması durumunda astım sıklığı %36 bulunmuştur (33).

#### **2.3.1.2. Çevresel Faktörler**

Çevresel faktörler astım gelişme riskini etkileyerek ve astım semptomlarına neden olarak etkili olurlar. Bunlar bazen örtüşme gösterir. Örneğin bazı mesleki duyarlılaştırıcılar her ikisine de neden olurken hava kirliliği ve bazı allerjenler astım semptomlarına neden olurken astım gelişmesiyle olan bağlantıları halen tam açık değildir (1).

### ***a. Allerjenler***

İç ortam ve dış ortam allerjenlerinin astım ataklarına neden olduğu iyi bilinse de astım gelişimindeki spesifik rolleri hala tam olarak bilinmemektedir (1). Özellikle yaşamın ilk yıllarında allerjen maruziyeti allerjik hastalıklar için önemli bir risk faktörüdür (34). Süt çocukluğu döneminde ilk olarak genellikle gıda allerjenlerine duyarlılık gelişmektedir. Gıda allerjisinin varlığı, astımın dört yaşından sonra devam etmesi için bağımsız bir risk faktörüdür. Yaş büyüdükçe gıda allerjisi sıklığı azalırken inhalan allerjenlere duyarlılık artar (35, 36). Doğum kohort çalışmaları üç yaşına kadar olan çocuklarda ev tozu akarları, kedi köpek deri kalıntıları ve aspergillus mantarlarının astım benzeri semptomlar için risk faktörü olduklarını düşündürmektedir (1,34). Fakat çocuklardaki allerjen maruziyeti ve duyarlanma kolay açıklanabilir nitelikte değildir. Allerjen dozu, maruziyet zamanı, yaş ve muhtemelen genetik faktörlere bağlı olduğu düşünülmektedir. Bazı çalışmalarda ev tozu akarları astım gelişimi açısından risk faktörü olarak bulunurken bazı çalışmalarda risk faktörü olarak bulunmamıştır (37-39). Allerjik sensitizasyon ve astım gelişimine kedi ve köpeklerin rolünü araştıran bazı çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Doğum kohort çalışmaları erken dönemde kedi ve köpek maruziyetinin astım semptomları ve astım gelişimini etkilemediğini göstermiş, bebeklik döneminde kedi maruziyetinin kedi duyarlılığını arttırırken köpek maruziyetinin inhalan allerjenlere karşı çocukları koruduğu gösterilmiştir (40). Bunun yanında bazı çalışmalar kedi köpek maruziyetinin allerjik duyarlanma riskini arttırabileceğini ileri sürmüştür (41). Hamam böceği enfestasyonunun özellikle şehirlerdeki evlerde allerjik sensitizasyonun önemli bir nedeni olduğu gösterilmiştir (42).

Astım prevalansı kırsal alanda yaşayan çocuklarda daha düşük bulunmuştur. Bu da bu çevrede daha fazla endotoksin maruziyeti varlığıyla ilişkili olabilir (43).

### ***b. Enfeksiyonlar***

Astımın doğal seyri hakkındaki son çalışmalar yaşamın erken dönemindeki viral solunum yolu enfeksiyonlarının hastalığın persiste eden formlarının gelişiminde önemli bir risk faktörü olduğuna dikkat çekmiştir (44). Çocukluk çağının erken dönemlerinde geçirilen viral enfeksiyonların astım gelişimi üzerine etkilerini araştıran bir çalışmada, 2 yaşından önce geçirilen tekrarlayan alt solunum yolu enfeksiyonlarının 10 yaşında astım gelişme riskini 4 kat arttırdığını gösterilmiştir (45). Respiratuvar Sinsitiyal Virüs (RSV)

nedenli özellikle hastaneye yatacak kadar ağır wheezingi olan hastalar okul çağında artmış rekürren wheezing ve astım riskine sahiptirler. Yapılan çalışmalarda bu oran %50 ye kadar varmaktadır (46). Bunun yanı sıra moleküler tanı yöntemlerinin gelişmesiyle Human rhinovirus (HRV)' in neden olduğu wheezingli hastalar okul öncesi çağda daha fazla astım olma riskine sahiptirler (47). Kış aylarında doğan bebeklerin 6 yaşında astım olma riskinin ortalama %30 arttığı belirtilirken bu artışa neden olan en sık etkenin HRV olduğu gösterilmiştir (48). Bunun yanında erken dönemde geçirilen kızamık ya da RSV gibi etkenlere bağlı solunum yolu enfeksiyonlarının astım gelişimini önleyebileceği ileri sürülmüştür (3).

Astımdaki “hijyen hipotezi” de erken çocukluk döneminde enfeksiyonlara maruziyetin, çocuğun immün sistemini “nonallerjik” yola kanalize edeceğini ve astım ile diğer allerjik hastalık riskini azaltabileceğini, artmış hijyen ve temizliğin allerji ve astım insidansında artışa neden olacağını ileri sürmektedir (6,49). Büyük kardeşleri ile yetişen veya kreşe devam eden çocuklarda enfeksiyon olasılığı artarken, bu durum ilerleyen yıllarda allerjik hastalık ve astım gelişme riskine karşı koruyucu olabilmektedir (49).

Yeni kanıtlar genetik olarak yatkınlığı olan kişilerde viral enfeksiyonlar ile aeroallerjen sensitizasyonu arasında kompleks etkileşim olduğunu ve bunların persistan astımın karakteristiği olan immün yanıtı ve havayolu değişikliklerine neden olduğunu göstermiştir (44). Atopik durum, alt solunum yollarının viral enfeksiyonlara olan cevabını etkilemekte, daha sonra viral enfeksiyonlar allerjik duyarlanmanın oluşumuna katkıda bulunmaktadır. Bu etkileşim bireyler eş zamanlı olarak allerjenlere ve viral enfeksiyonlara maruz kaldıklarında ortaya çıkmaktadır (3).

Parazit enfeksiyonlarının sık görüldüğü ülkelerde allerjik hastalıkların daha az görüldüğü çok sayıda epidemiyolojik çalışma ile gösterilmiştir. Bunun aksini gösteren çalışmalar sayıca az da olsa yayımlanmaktadır. Askaris enfeksiyonu görülen çocukların aynı zamanda küçük yaşlarda sık bronşiyolit atakları geçirmesi durumunda ileride astım gelişme riskinin 50 kat arttığı Pereira ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir (50). Diğer taraftan hepatit A, toxoplazma gondii, kızamık, mikoplazma, herpes simpleks 1 gibi enfeksiyonların astımdan koruyucu olabileceği de bildirilmiştir (51).

### ***c. Mesleksel duyarlaştırıcılar***

Mesleksel astım endüstrileşmiş ülkelerde görülen yaygın mesleksel solunum sistemi hastalığı olup daha çok erişkinlerde görülmektedir ve çalışma yaşındaki kişilerin yaklaşık onda birini etkilemektedir (1).

### ***d. Sigara***

Sigara kullanımı ve/veya dumanına maruziyet, astımlılarda akciğer fonksiyonlarındaki bozulmanın şiddetlenmesi, astım semptomları ve ağırlığında artışa yol açmaktadır (2). Çevresel sigara dumanı maruziyeti (ÇSD) çocuklarda akciğer fonksiyonlarında bozulma için majör risk faktörüdür. Her ne kadar ÇSD' nin en sık kaynağı babanın içici olması ise de çocuklar okulda restaurantlarda, halka açık alanlarda, toplu taşıma araçlarında da ÇSD' na maruz kalabilirler. ÇSD maruziyetinin Üst solunum yolu enfeksiyonu (ÜSYE), wheezing, astım ve alt solunum yolu enfeksiyonu (ASYE) prevalansını arttırdığı gösterilmiştir. Anne sigara dumanına maruz kalıyorsa geliştirmekte olan fetüs de göbek kordon kanıyla ÇSD' a maruz kalmaktadır. Plasenta burada bariyer görevi görmemektedir. Bu bebeklerdeki immün sistem daha fazla allerjik yöne doğru devie olmakta ve astmatik inflamatuvar fenotip ve bundan dolayı sonraki yaşamda daha fazla astım gelişmektedir (52). Yine de annenin sigara içiminin bebeğin akciğer gelişimini olumsuz etkilediği ve anneleri sigara içen infantların, hayatlarının ilk yılında hışıltı geçirme olasılıklarının 4 kat arttığı bildirilmektedir (1). ÇSD maruziyeti astımlı hastalardaki solunum fonksiyon testlerinde hızlı düşme, astım ağırlığında artma, inhale veya sistemik steroid yanıtında azalma ve astım kontrolünde bozulma ile ilişkili bulunmuştur (53).

### ***e. İç ortam / Dış ortam hava kirliliği***

En sık iç ortam allerjenleri ev tozu akarları, hamam böceği, hayvan epitel kalıntıları ve bazı mantarları, sigara dumanı, ısıtma ve soğutmada kullanılan yakıtların buharı–dumanını içerir (1,54). Genetik olarak yatkın çocuklarda kritik olan postnatal dönem boyunca iç ortam allerjenlerine maruz kalmak erken çocukluk döneminde duyarlanmaya neden olabilir. Prospektif çalışmalardan elde edilen çelişkili kanıtlar nedeniyle maruziyet ve astım gelişimi arasında doğrudan bir doz yanıt ilişkisi ile bazı şüpheler vardır. Bununla birlikte son yıllarda elde edilen kanıtlar iç ortam allerjen maruziyeti astım ve allerji



nedenidir fakat bu etki çocukların genetik olarak yatkınlığı kadar doza ve allerjenin türüne bağlıdır (54). Parfüm, toz, klor ve çamaşır suyu gibi iritanlarla temas, astım semptomlarının artmasına neden olabileceği için bunlardan kaçınma da önerilmektedir (55).

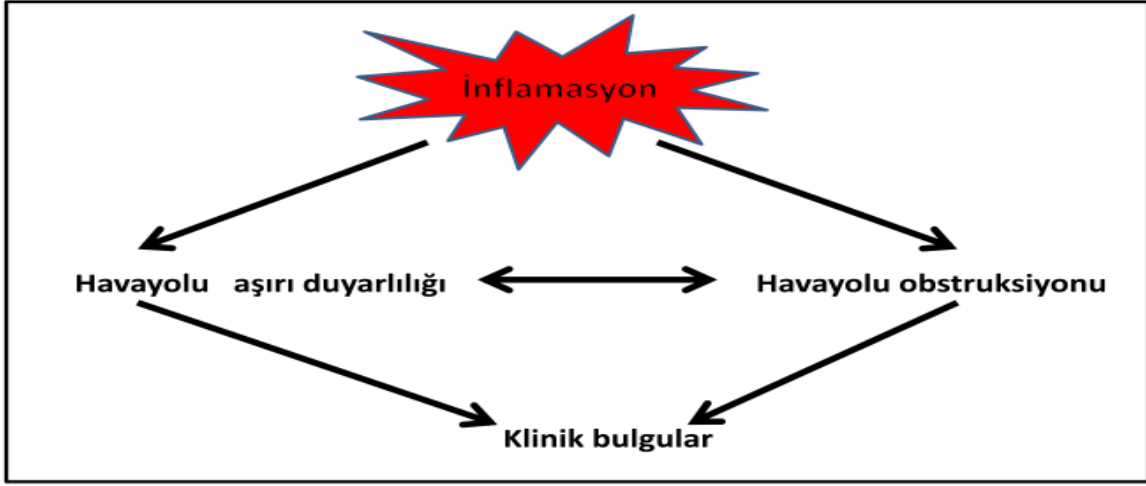
Dış ortam hava kirliliği ile astım arasındaki nedensel ilişki halen tartışmalıdır. Hava kirliliğinin olduğu ortamda büyüyen çocuklarda akciğer gelişimi kısıtlı olmakla beraber, bunun astıma yol açıp açmadığı bilinmemektedir. Diğer yandan, astım alevlenmeleri ve astıma bağlı hastane başvuruları ile hava kirliliği düzeylerindeki artışlar arasında ilişki olduğu bir çok çalışmada gözlenmiştir (1,56).

#### *f. Diyet*

Diyet hamilelik süresince fetal gelişmeyi etkileyerek hem prenatal dönemde hem de erken bebeklik döneminde enterik maruziyetle postnatal dönemde en önemli maruziyet olarak kabul edilebilir (57). Astım gelişiminde özellikle anne sütü ile beslenmenin etkileri üzerine çok sayıda araştırma yapılmıştır. Genel olarak, çalışmalar inek sütü ve soya proteini kaynaklı formula mamalarla beslenen çocuklarda anneleri tarafından emzirilen çocuklara göre daha fazla hışıltı ortaya çıktığını bulmuşlardır (58). Modern beslenme ile geleneksel beslenme karşılaştırıldığında daha az balık, taze meyve ve sebze daha fazla işlenmiş ve sentetik gıda ile temsil edilir. Bu genel değişiklikler allerjik hastalıklar ve tekrarlayıcı hışıltı için risk faktörü oluşturabilecek çeşitli diyet bileşenlerinin içeriklerini etkilemektedir (57). Artmış oranlarda hazır gıda ile beslenme, düşük antioksidan (meyve, sebze) alımı, artmış n-6 poliansatüre yağ asidi (margarin ve bitkisel yağlarda bulunan) alımı, yetersiz oranlarda n-3 poliansatüre yağ asidi alımının (yağlı balıkta bulunan) son zamanlarda görülen astım ve atopik hastalıktaki artışa katkıda bulunduğu ileri sürülmektedir (1,58).

#### **2.4. Astım Patogenezi ve Patofizyolojisi**

Astım, genetik ve çevresel faktörlerin etkisi ile farklı fenotipik özellikleri, patolojik bulguları ve tedavi yanıtlarını içinde barındıran bir grup hastalığın genel ismidir. Havayolu daralması astımda fizyolojik değişikliklere ve bulgulara neden olan esas olaydır. Astımda birçok hücre ve salgıladıkları mediyatörler kronik enflamatuvar havayolu hastalığının gelişmesinde rol alır (Şekil1) (1, 3).



**Şekil 1.** Havayolu inflamasyonu ve klinik bulgular arasındaki etkileşim ve astım patofizyolojisi

#### 2.4.1. Astımda Havayolu Daralması

##### a. *Bronkokonstriksiyon*

Birçok bronkokonstrikör medyatör ve nörotransmitere yanıt olarak gelişen havayolu düz kası kontraksiyonu havayolu daralmasındaki temel mekanizmadır, bu büyük oranda bronkodilatatörlerle geriye dönmektedir (1).

##### b. *Havayolu ödemi*

İnflamatuvar medyatörlere yanıt olarak artmış mikrovasküler kaçağa bağlıdır. Bu özellikle akut alevlenmeler sırasında önemli olabilir.

##### c. *Havayolu duvarı kalınlaşması*

Sıklıkla remodelling olarak adlandırılan yapısal değişikliklere bağlıdır. Sıklıkla daha şiddetli hastalıkta önemli olabilir ve mevcut tedaviye rağmen tam olarak geriye döndürülemez.

##### d. *Mukus hipersekresyonu*

Lümenin tıkanmasına (mukus tıkaçları) neden olabilir ve artmış mukus sekresyonu ve inflamatuvar eksudaya bağlıdır.

#### 2.4.2. Havayolu Aşırı Duyarlılığı

Astım tanımının bileşenlerinden biri olan havayolu aşırı duyarlılığı astımlı hastanın havayollarının normalde zararsız olan bir uyarana karşı daralmayla cevap vermesidir.

Havayollarındaki bu aşırı duyarlılık hem inflamasyon hem de hava yollarının onarımı ile ilişkili olup, tedavi ile kısmen geri dönebilir.

**a. Havayolu düz kasının aşırı kontraksiyonu**

Havayolu düz kas hücrelerinin artmış hacim ve/veya kontraktilesi sonucu ortaya çıkabilir.

**b. Karşılıksız kalma**

Bronkokonstriktör maddeler inhale edildiğinde hava yolu duvarındaki inflamatuvar değişiklikler sonucunda ortaya çıkan havayolu kontraksiyonunun karşılanamaması havayollarında aşırı daralmaya ve normal hava yollarında bulunan maksimum kontraksiyon platosunda bir kayba neden olabilir.

**c. Havayolu duvarının kalınlaşması**

Ödem ve yapısal değişikliklerle ortaya çıkan havayolu duvarı kalınlaşması, geometrik nedenlerle ortaya çıkan havayolu düz kası kontraksiyonuna bağlı gelişen havayolu daralmasını daha da artırır.

**d. Duyusal sinirler**

İnflamasyon nedeniyle duyarlı hale gelebilen duyuşal sinirler duyuşal uyarılara cevap olarak aşırı bronkokonstriksiyona yol açar.

### **2.4.3. Özel Mekanizmalar**

**a. Akut alevlenmeler**

Astımda geçici kötüleşmeler astım semptomları açısından risk faktörlerine ya da egzersiz hava kirliliği gibi “tetikleyicilere” ve hatta bazı hava koşullarına maruz kalınması durumunda ortaya çıkabilir. Daha uzun süreli kötüleşme günler veya haftalar boyunca sürebilen, genellikle, üst solunum yollarının viral enfeksiyonlarına (özellikle HRV ve RSV) ya da alt solunum yollarında inflamasyonu artıran (akut ya da kronik inflamasyon) allerjen maruziyetine bağlıdır.

**b. Nokturnal astım**

Geceleri astımda kötüleşmenin mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır fakat epinefrin, kortizol ve melatonin gibi dolaşan hormonların sirkadyan ritmine ve kolinerjik sistem gibi nöral mekanizmalara bağlı olabilir.

### ***c. İrreversible havayolu kısıtlılığı***

Şiddetli astımlı bazı hastalarda güncel tedaviye rağmen tam olarak reversible olmayan ilerleyici havayolu kısıtlılığı gelişebilir. Bu kronik astımdaki havayolu yapısındaki değişikliklere bağlı olabilir.

### ***d. Zor Astım***

Bazı hastalarda astım yönetimi ve glukokortikoid tedavisi istenilen sonucu elede etmek zordur ve neden tam olarak bilinmemektedir. Sıklıkla tedavi uyumunun kötü olması ve fizyolojik ve psikiyatrik rahatsızlıklarla beraberdir. Patoloji büyük ölçüde astımın diğer formlarına benzer, nötrofilik inflamasyonda artış vardır, daha fazla küçük havayolları tutulmuştur, daha fazla yapısal değişiklik vardır.

### ***e. Sigara içme ve astım***

Sigara içme astım kontrolünü daha fazla zorlaştırır, daha fazla alevlenmelere neden olur ve daha fazla hastaneye yatışa, akciğer fonksiyonlarında daha hızlı azalmaya neden olur ve ölüm riskini artırır.

## **2.4.4. Astımda Havayolu Enflamasyonu**

Astımın tüm klinik tiplerinde kronik enflamasyon temeldir. Havayollarındaki enflamasyon asemptomatik dönemde dahi devam etmektedir ancak enflamasyonun yoğunluğu ile astımın şiddeti arasında net bir ilişki yoktur.

### **2.4.4.1. Astımlı Havayolundaki İnflamatuvar Hücreler**

Allerjik hastalıklarda bulunan karakteristik yapıdaki inflamasyon astımda görülür. Burada aktive mast hücreler, artmış sayıda aktive eozinofiller, artmış sayıda T hücre reseptörlü invaryant natürel killer T hücre (iNKT) hücreler ve Th2 lenfositler görülür. Bunlar medyatörler salgılayarak semptomlara katkıda bulunurlar (1).

#### ***a. T Lenfositler***

Astımlı hastaların havayollarında IL-4, IL-5, IL-9 ve IL-13 salgılayarak eozinofilik inflamasyon ve B lenfositlerinin IgE salgılamasını düzenlerler. Artmış Th2 hücre aktivasyonu Th2 hücreleri normalde baskılayan regülatuvar T hücre sayısının azalmasına bağlı olabilir. Aynı zamanda büyük oranda Th1 ve Th2 sitokini salgılayan iNKT hücre sayısında artmaya da bağlı olabilir (3). Th1 hücreleri nötrofil-ağırlıklı enflamasyona neden

olur. Astımlı kişilerde havayolu aşırı duyarlılığı ve havayollarındaki eozinofil sayısı IL-4 ve IL-5 salgılayan Th2 sayısı ile orantılı olarak artar (59).

#### ***b. Mast hücreler***

Yüksek afiniteli IgE reseptörleri (FcεRI) aracılığıyla antijen ve osmotik uyarılar sonucu aktive olan mast hücreleri bronkokonstriktör medyatörler (proteaz histamin, lökotrien (LT) ve prostoglandin D<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>)) salgılayarak doku inflamasyonuna katkıda bulunurlar ve dokuya eozinofil toplanmasına neden olurlar (3,60). Mast hücreleri aynı zamanda salgıladıkları interlökin-4 (IL-4), IL-5 ve IL-13 gibi sitokinlerle kronik havayolu enflamasyonuna; TNF-α, transforming growth faktör-β (TGF-β), fibroblast büyüme faktörü (FGF), triptaz ve kimaz ile remodelinge katkıda bulunurlar (61). Havayolu düz kaslarında mast hücresi sayısının artması havayolu aşırı duyarlılığıyla ilişkilidir (62).

#### ***c. Dendritik hücreler (DH)***

Antijen sunan hücre olarak fonksiyon gösteren bu hücreler havayolları yüzeyinde antijenle temasa geçer ve bölgesel lenf nodlarına geçerek regülatuar hücrelerle temasa geçer ve naif T hücrelerinin Th2 yönünde dönüşümünü sağlarlar (63, 64). Akut allerjen maruziyeti ile dendritik hücre uyarılması Th2 yanıtı ile astım alevlenmelerine neden olurken, uzun süreli allerjen maruziyeti ise bilinmeyen mekanizmalar ile solunumsal toleransın gelişmesini sağlar (65).

#### ***d. Makrofajlar***

Makrofajlar havayollarında en fazla bulunan hücrelerdir ve aynı zamanda allerjen düşük afiniteli IgE reseptörleri aracılığıyla aktive olarak inflamatuvar yanıtı güçlendiren inflamatuvar medyatör ve sitokin salınımına neden olurlar. Alveolar makrofajlar aynı zamanda antijen sunucu hücre olarak da görev yapmaktadırlar. Bunun yanında surfaktan rezorpsiyonu yaparak enflamasyonu baskırlar. Böylece doku makrofajlarının enflamasyonu artırma ve azaltma gibi farklı görevleri olduğu düşünülmektedir (66).

#### ***e. Eozinofiller***

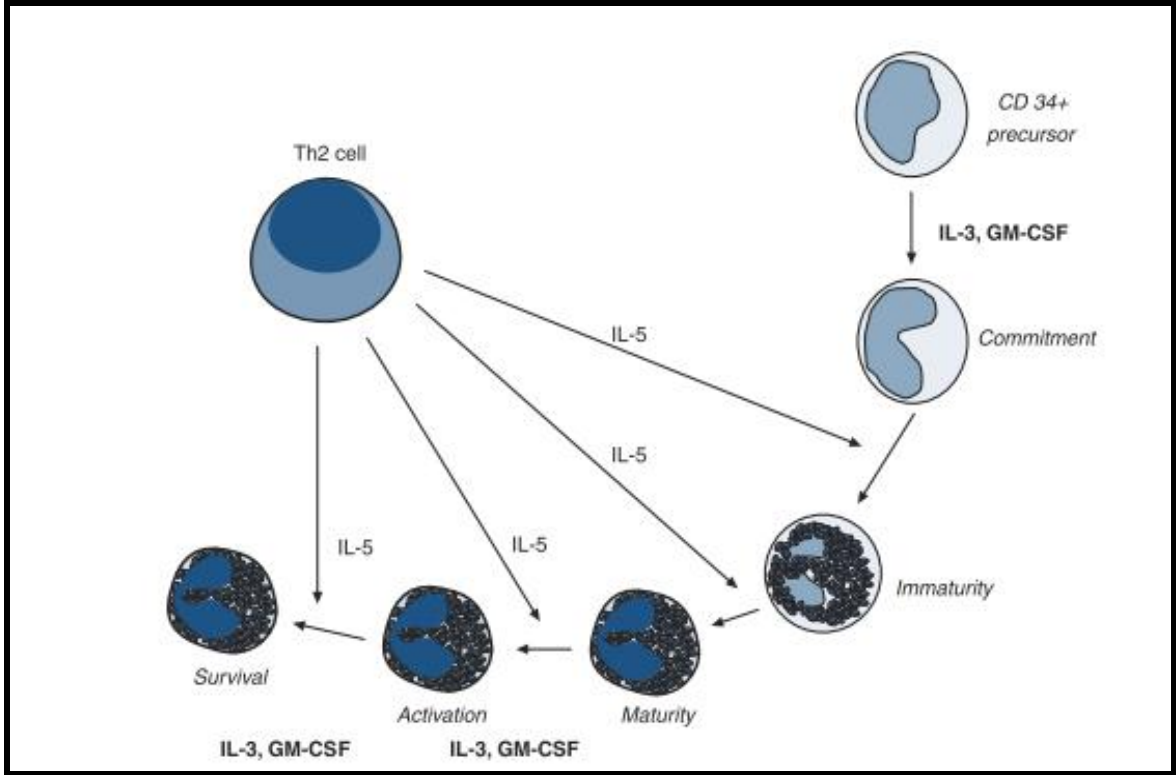
Eozinofilik infiltrasyon allerjik inflamasyonun karakteristik özelliğidir. Astımlı hastaların havayollarında en çok göze çarpan hücrelerdir. Sadece havayolu duvarlarında bulunmayıp kontrol altında olmayan astımlılarda aynı zamanda büyük oranda balgamda ve BAL' da da bulunmaktadır. Bu hücreler başlangıçta büyük ölçüde kemik iliği CD34 prekürsör kaynaklıdır, bunu izleyerek astmatik havayollarından PGD<sub>2</sub>, sisteinil LT, sitokinler ve kemokinler salgılanır (67). Eozinofiller sağlıklı bir kişinin kemik iliğinin yaklaşık olarak %3 nü oluşturur. Dolaşımdaki eozinofillerin yarı ömrü 18 saat olup bu süre

eozinofilik durumlarda eozinofil yaşam süresini artıran sistemik eozinofil aktive eden sitokinlerin artışına bağlı olarak artar. Eozinofillerin kemik iliğine üretiminin uyarılması için kritik olan önemli sitokinler IL-5, IL-3 ve granülosit monosit stimulan faktör (GM-CSF)'dür. Bu üç sitokin inflame dokuların yanısıra aynı zamanda periferik kan CD4+ ve CD8+ T lenfositleri tarafında üretilir. (68). IL-3, GM-CSF ve eotaksin 1-3 kemik iliği CD34+ prekürsör hücrelerinden eozinofillerin erken derivasyonu için çok önemliyken IL-5 maturasyon ve havayolları içine toplanmasından sorumludur (Şekil 2). Eozinofiller major bazik protein, eozinofil peroksidaz gibi granüler temel proteinlerin, eozinofil katyonik protein, ve aynı zamanda prostosiklin gibi eikosanoitlerin ve sisteinil LT ve potansiyel doku hasarı yapabilen superoksid, çeşitli sitokin ve kemokinlerin zengin bir kaynağıdır (67). Eozinofiller havayolu aşırı duyarlılığı gelişmesi basic proteinlerin ve serbest oksijen derivativesi radikallerin salınmasıyla bağlantılıdır. Deneysel olarak aktive edilmiş eozinofillerin astımlı hastaların karakteristik özelliği olan havayolu epitel hasarı yaptığı gösterilmiştir (68).

Artmış eozinofil üretimi için sinyal muhtemelen inflame havayolundan üretilmektedir. Eozinofil toplanması, eozinofillerin başlangıçta havayolu dolaşımındaki vasküler endotelial hücrelere adezyonuyla başlar, daha sonra submukoza içine göç ederler ve bunu izleyerek aktive olurlar. Eozinofillerin adezyonu eozinofil yüzeyinde spesifik glikoprotein molekülü olan integrinlerin ekspresyonu ve İnterselüler adezyon molekül-1 (ICAM-1) gibi bazı moleküllerin vasküler endotelial hücrelerden ekspresyonu ile olmaktadır. ICAM-1 e yönelik bir antikor allerjen maruziyeti sonrası havayollarına eozinofil toplanmasını belirgin şekilde inhibe etmekte ve eşlik eden havayolu aşırı duyarlılığı gelişmesini engellemektedir. Fakat ICAM-1 eozinofiller için selektif değildir ve selektif olarak allerjik inflamasyonda eozinofillerin selektif olarak toplanmasını dikkate almaz. Fakat Vasküler selüler adezyon molekül-1 (VCAM-1) ile etkileşime giren eozinofillerden eksprese edilen adezyon molekülü vary late antijen-4 (VLA-4) eozinofiller için daha selektif görülmektedir ve IL-4 VCAM-1 ekspresyonunu endotelial hücrelerden artırmaktadır.

Eozinofil göçü LT ve platelet activating factor (PAF) gibi lipid medyatörlerin etkisiyle GM-CSF ve IL-5 gibi sitokinlerin etkisine bağlı olabilir. Eozinofillerin dolaşımdan havayolu yüzeyine göçünü sağlayan bazı medyatörler de vardır. En güçlü ve selektif ajanlar olarak regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted

(RANTES), eotaksin 1-3 gibi ve Monosit kemoatraktant protein-4 (MCP-4) gibi epitel hücrelerden salgılanan kemokinlerdir.



**Şekil 2.** Kemik iliği ve havayolu duvarında CD34 precursorlerinden eozinofillerin toplanması ve maturasyonunda rol alan Th2 sitokinler

Havayollarındaki eozinofilik yanıt için IL-5 ve kemokinler arasında etkileşim gerekmektedir. Havayollarında eozinofillerin toplanması için en önemlisi GM-CSF ve IL-5 olan çeşitli büyüme faktörleri gerekmektedir. Bu büyüme faktörleri yokluğunda eozinofiller apoptoza uğramaktadır.

Humanize bir monoklonal antikor olan anti-IL-5 uygulanan hastalar ve hayvan çalışmalarında dolaşan eozinofillerde anlamlı azalma meydana gelmiştir. İnhalan allerjen maruziyeti sonrası havayollarına eozinofil toplanması tamamıyla engellenmiştir, ancak inhalan allerjene yanıt etkilenmemiştir ve BHR' de azalma meydana gelmemiştir. Bu veri astım ve BHR' de eozinofillerin rolünün sorgulamaktadır fakat muhtemelen eozinofiller kronik astımda salgılanan TGF- $\beta$  gibi büyüme faktörlerinin salgılanmasına bağlı olarak görülen yapısal değişiklikler de rol oynamaktadır (68).

#### **f. Nötrofiller**

Nötrofiller allerjik reaksiyonun geç faz periyodunun başlangıç aşamasında bir süre ortamda bulunurlar ve daha sonra kaybolurlar. Nötrofil sayısı şiddetli astım

hastaları ve sigara içen astımlıların havayollarında ve balgamlarında artış göstermektedir. Fakat bu hücrelerin astımda patofizyolojik rolü tam belirlenmiş değildir (69). Astımdan ani ölen hastaların havayollarında büyük miktarda nötrofil bulunmaktadır, bu da eozinofilik inflamasyona göre nötrofilik toplanmanın daha hızlı olmasına bağlı olabilir. Şiddetli astımdaki nötrofillerin varlığı yüksek doz kortikosterid tedavisini yansıtabilir, kortikosteridler nötrofil apoptozunu engelleyerek nötrofil yaşam süresini arttırmaktadır. Fakat şiddetli astımda havayollarına nötrofiller muhtemelen aktif olarak toplanmaktadır ve bu olguların balgam IL-8 düzeylerinin yüksek bulunması ağır astımlılarda steroid etkisi dışında da nötrofil birikiminin olabileceğini düşündürmektedir.

İnhaler kortikosteroidler (İKS) astımlı hastalarda makrofajlarda daha fazla IL-10 salınımına katkıda bulunurlar. Bu molekülün doğrudan ilgili antijen tarafından uyarılmasından sonra nötrofillerde solunumsal patlamanın (respiratory burst) gerçekleştiği de ortaya konulmuştur. Nötrofillerin allerjik reaksiyonlardaki rolünün bu solunumsal patlama sonucu ortaya çıkan reaktif oksijen radikalleri (süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve hidroksil anyonu) üzerinden olduğu düşünülmektedir. Allerjik enflamasyon bölgesine nötrofillerin gelmesiyle kollajenaz, elastaz, oksijen radikalleri, LTB<sub>4</sub>, PAF ve Tromboksan A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) gibi, doku hasarına neden olabilen çok sayıda molekül ortaya çıkar (67).

#### **2.4.1.2. Astımda Enflamatuvar mediyatörler**

Astım patogenezinde dendritik hücreler, doku makrofajları ve diğer antijen sunan hücreler ile epitel hücrelerinden çok sayıda sitokin ve kemokin salgılanır.

##### ***a. Sitokinler***

Sitokinler hücre-hücre sinyalleşmesi, hücre büyümesi, farklılaşması ve proliferasyonu, kemotaksiste, immünmodülasyon gibi bir çok inflamatuvar olayda rol oynayan küçük glikosilatlı proteinlerdir. Sitokinler etkilerini hedef hücre yüzeyindeki spesifik sitokin reseptörleri aracılığıyla yaparlar. Son dönemlere kadar T lenfositler ve eozinofiller sitokinlerin ana kaynağı olarak kabul ediliyordu fakat epitel, endotel, havayolu düz kas hücresi ve fibroblastları da içeren yapısal hücrelerden de salındığı gösterilmiştir. Astım patogenezinde rol oynayan sitokinler arasında Th1 hücre kaynaklı moleküller (IL-2, İnterferon-Gama (IFN- $\gamma$ ) ve IL-12), Th2 hücreler (IL-4,-5,-9, -13, 22, 25,31 ve 33), Th3 ya da T regülatuvar hücre sitokinleri (IL-10 ve TGF-B) ve Th17 hücreler (IL-17A ve 17-F)



hücre aracılı ve hümorale immünitenin düzenlenmesinde rol alırlar. Allerjik inflamasyonda Th1 ve Th2 yanıt arasındaki dengesizlik vardır, Th2 immün yanıt baskındır. Son zamanlarda Th17 aracılı sitokin yanıtının astım immünobiyolojisinde rol aldığı gösterilmiştir (70,71)

### 1. IL-4

T hücrelerin Th2 yönünde farklılaşması için gereklidir. Th2 hücreler için otokrin büyüme faktörüdür. IL-4, B hücrelerden IgE sentezini başlatır ve B hücre, mast hücresi ve bazofiller üzerindeki IgE reseptör sayısını artırır. IgE ile aktif hale gelmiş mast hücrelerinden sisteinil lökotrienlerin üretimini sağlar, endotel hücrelerin üzerinde vasküler hücre adezyon molekülü-1 (VCAM-1) gibi adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırır. IL-13 ile birlikte epitel hücrelerinden eotaksin üretimini artırır ve inflamasyon bölgesine eozinofil, bazofil ve lenfosit göçü sağlanır. IL-4 böylelikle mukus üretimine ve bronş hiperreaktivitesine katkıda bulunur. IL-4 ve IL-13 reseptörüne bağlandığında sitoplazmada Signal Transducer and Activator of Transcription 6 (STAT-6) protein ekspresyonu artar ve bu protein fosforile olur çekirdeğe geçer ve transkripsiyonel faktörlere bağlanarak sitokin yanıtını ortaya çıkarır (72).

### 2. IL-5

IL-5 en önemli eozinofilopoetindir. Ek olarak eozinofil üretimini uyarır, IL5 eozinofiller için kemotaktiktir ve matur eozinofilleri aktive eder, eozinofil sekresyonunu indükler ve sitotoksitesini artırır. Th2 hücrelerden eksprese edilir ve daha az olarak eozinofiller ve mast hücrelerden salgılanır. IL-5 spesifik İnterlökin-5 reseptörü ( IL-5R) ile etkileşir. IL-5R  $\alpha$  ve  $\beta$  zinciri (CD131) spesifik IL-5R ile etkileşir. IL-5R ve GM-CSFR ve IL-3R ile paylaşılan bir B zinciri (CD131) dan oluşur (57). Bu sitokin eozinofillerin kemik iliğindeki maturasyonu açısından önemlidir, CD34+/CD33+ progenitör hücrelerin diferansiyasyonunun temel olarak son safhasını etkiler. IL-5 kemik iliğinde hem matur hem de immatur eozinofillerden salgılanır, kendi reseptörünün transmembran izoformunun ekspresyonunu düzenler, eozinofil öncülerinin farklılaşması için gereklidir. Hemopoetik özelliklerine ek olarak IL-5' in zayıf bir eozinofil kemoatraktantı olduğu düşünülmektedir, primer olarak eozinofil toplanmasından eotaksin gibi diğer kemotaktik ajanlar sorumludur. IL-5' in eozinofil toplanmasını kemokinlere yanıtın ve eozinofillerdeki  $\alpha\beta 2$  integrinlerin upregule edilmesi, böylece endotelial hücrelerden eksprese edilen VCAM-1 onların bağlanmasını teşvik etmesidir. Böylece dokularda eozinofil birikimi olur. İnsanlara IL-5

uygulanması mukozal eozinofili ve artmış BHR nedenidir. IL-5 eozinofil apoptozunu engelleyerek yaşam süresini arttırır. Aktive eozinofillerin sekresyonunu, sitotoksitesini ve kemotaksisini artırır. IL-5 eozinofiller antijene bağlanıp büyük ölçüde degranüle olduğu zaman aynı zamanda plazma hücrelerinden IgA üretiminde uyarmaktadır.

Eozinofillerin IL-5' e bağlı aktivasyonu IL-5 antagonistlerinin kullanarak hayal kırıklığı yaratan sonuçlar sonucu astım patofizyolojisinin daha az merkezinde olduğunu düşündürmektedir, bu belkide GM-CSF' e bağlı gereğinden fazla sitokin olmasına bağlı olabilir. Bu sonuçlar IL-5' den bağımsız persistan eozinofil aracılı inflamasyonu yansıtmaktadır fakat aynı zamanda astıma noneozinofil aracılı katkıyı yansıtmaktadır. IL-5' in diğer aktiviteleri sitotoksik T lenfositlerin maturasyonunu ve bazofil diferansiyasyonunu içerir. Th2 gibi lenfositlere ek olarak IL-5' in diğer kaynakları mast hücreleri, NKT hücreleri ve belkide eozinofillerin kendilerini içerir (73).

### **3. IL-13**

IL-4, IL-5 ile beraber Th2 hücrelerden salınır. IL-13 ü kodlayan gen IL-4, IL-5 ve GM-CSF genleri ile beraber 5. Kromozomda kümelenmişlerdir. IL-13, IL-4 ile beraber B hücrelerini IgE üreten plazma hücrelerine dönüştürür, monosit ve makrofajları aktif hale getirir, goblet hücre hiperplazisine ve mukus sekresyonunun artmasına neden olur (74).

### **4. IL-9**

Th2 ve Th9 hücrelerden salgılanır. Th2 sitokin üretimini, havayolu mukus üretimini arttırır. Bir miktar da IL-13 üretimini indükleyerek eozinofil ve bazofil farklılaşmasını sağlar (75).

### **5. IL-17**

IL-17 aktive Th17 hücreleri tarafından üretilir ve potent inflamatuvar bir sitokindir (76). CD4+ Th17 hücreler yanısıra CD8+ T hücreler, NK hücreler, gama delta T hücreler, NK T hücreler ve akciğer ile akciğer dışındaki ve monosit ve bazofiller de IL-17 üretebilir. IL-17A ile aminoasit sekansı yönünden ona en çok benzeyen ,IL-17A ile aynı reseptörü paylaşan sitokin olan IL-17F astım hastalarında artar ve düzeyi havayolu hipersensitivitesi ile orantılıdır. IL-17A havayolundaki epitel hücreleri, düz kas hücrelerini ve fibroblastları uyarır ve bu hücrelerden inflamatuvar medyatörlerin üretilmesini sağlar. Bu medyatörler ciddi ve steroide dirençli astımdaki gibi büyük oranda nötrofil göçüne neden olurken daha az oranda da Th2 ilişkili inflamasyon gelişimine katkıda bulunur (77).

## 6. IL-22

IL-22 aktif hale gelmiş CD4+ Th17 hücresinden doğal öldürücü hücrelerden, CD11c+ myeloid hücrelerden salgılanır, IL-10 sitokin ailesinin üyesidir, yapısal olarak IL-10' a benzer ve IL-10 ile aynı reseptör alt birimini paylaşır. Besnard ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada allerjik astım patogenezinin başlangıcında IL-22' nin gerekli olduğu ancak sonraki fazlarda inflamasyonu baskıladığı üzerinde durulmuş, IL-22' nin IL-17A' nın ekspresyonunu ve inflamatuvar özelliklerini düzenlediği belirtilmiştir (78).

## 7. IL-25

IL-25 astım ve allerjik rinit gibi Th2 ilişkili hastalıkların başlangıcında ve devamında etkindir. Allerjene maruz kalan epitel hücresinde arttığı gösterilmiştir. CD4+ hücelere direk etki eder ve Th2 yönünde farklılaşmayı sağlar. Th2 hücrelerden sitokin üretimini artırır (79).

## 8. IL-31

IL-6 sitokin ailesi üyelerinden biridir ve Th2 hücrelerden salınır. Astım hastalarında serum IL-31 düzeyleri ve periferik kan mononükleer hücrelerindeki IL-31 transkriptleri artmıştır. IL-31' in astım hastalarında epitel hücre fonksiyonuna etki ettiği düşünülmektedir. Yeni tanımlanan sitokinlerden olan IL-31' in IL-25 ve IL-33 ile beraber Th2 cevabında etkin olduğu gösterilmiştir (80).

## IL-33

IL-33 ST2 reseptörü üzerinden etkisini gösteren IL-1 sitokin ailesi üyesidir. ST2 reseptörü Th2 hücre, NK, NK T hücre, eozinofil, bazofil, mast hücresi üzerinde bulunur ama Th1 hücre ve nötrofil üzerinde bulunmaz. Astımda akciğer epitel hücrelerinde ve düz kas hücrelerinde IL-33 ekspresyonu artmıştır. IL-33 Th2 hücrelerden ve NK T hücrelerden IL-4, IL-5 ve IL-13 salınımını indükler, doğrudan eozinofil, dendritik hücre ve mast hücresini aktif hale getirir. Ayrıca CD34+ kök hücreleri üzerinde ST2 reseptörü bulunur ve IL-33 ile uyarılan bu hücrelerden Th2 sitokin salınımı olur. IL-33 mast hücre matürasyonunu sağlar, eozinofil, bazofil ve mast hücrelerinin kemotaksisini ve adezyonunu artırır (81).

### **a. Kemokinler**

Havayollarına inflamatuvar hücrelerin toplanmasında önemlidirler ve büyük ölçüde havayolu epitel hücrelerinden salgılanırlar (1). Küçük sitokinlerdir (8-10 kDa), primer olarak kemotaksis sürecinde dokulara lökosit toplanması ve trafiğinde rol alırlar. 40'dan fazla kemokin tanımlanmıştır ve dört subgrub altında sınıflandırılmışlardır: CXC, CC, C, ve CX3C.

CXC (alfa kemokinler) ve CC (beta kemokinler) iki ana kemokin gurubudur. CXC kemokinler primer hedefi nötrofiller olan IL-8 (CXCL8) ve lenfositlerin göçünü sağlayan IP-10 (CXCL-10)' u içerir. Eotaxin, RANTES, MCP-1–MCP-4, makrofaj inhibitör protein (MIP)-1 $\alpha$  ve MIP-1 $\beta$  tipik CC kemokinlerdir, monosit, T hücre ve eozinofiller hedef hücrelerdir (70). Eotaxin relatif olarak eozinofiller için selektiftir. Eotaxin, RANTES ve IL-5 ile sinerji yaparak allerjik enflamasyonda en önemli eozinofik kemoatraktantını oluştururlar. Thymus and activation-regulated chemokine (TARC) ve makrofaj derive kemokinler Th2 hücre toplanmasına neden olur (1). Ayrıca kemokin ligand 17 (CCL17) ve CCL22 de Th2 göçünü sağlarlar (82). Bu nedenle CC kemokinlerin astım patogeneğinde büyük öneme sahip oldukları düşünülmektedir.

#### **1. IL-8**

Nötrofiller için güçlü bir kemotaktik faktördür. Akciğerde ana kemoatraktandır, IL-8 nötrofizan antikörlerle bloklendiğinde kemotaktik aktivitesinin %75-98 inhibisyonla sonuçlanmıştır. IL-8 CXC subfamilyasındandır, özellikle epitel hücreleri, makrofajlar ve nötrofillerin kendisinin olduğu bazı hücreler tarafından üretilir ve proinflamatuvar stimülasyon üzerine salınırlar (83).

Persiste astımlıların indükte balgam analizinde iki farklı inflamatuvar patern saptanmıştır. En sık saptanan patern nonözinoziliktir ve akciğerlere nötrofil akımıyla birlikte ve lokal IL-8 üretimi artmıştır. Balgamdaki IL-8 astım ataklarının geç fazında artış göstermektedir. Bunun yanında noninfeksiyöz status asthmatikusta nötrofil sayısı ve IL-8 düzeyi BAL sıvısında yüksek oranda artmıştır. IL-8 inhalasyonunun gine domuzlarında doğrudan bronkokonstrüksiyonu provake ettiği gösterilmiştir, muhtemelen nötrofil infiltrasyonu ve aktivasyonu uyararak doğrudan veya dolaylı olarak astıma katkıda bulunmuşlardır (84). Bunun yanında kortikosteroid dirençli hastaların akciğer interstisyumunda, havayolu duvarında, lümeninde nötrofil sayısının artmış olduğu bildirilmiştir (85).

## 2. Sisteinil lökotrienler

5-lipoksijenaz enzimi aracılığı ile araşidonik asitten sentez edilirler. Bu grupta LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub> bulunmaktadır. Mast hücreleri ve eozinofiller tarafından salınan lökotrienler, bronkokonstrüksiyona, vasküler permeabilitenin artmasına, mukus sekresyonuna ve eozinofilik infiltrasyonu arttırmasına neden olmaktadır (86).

## 3. Histamin

Havayollarındaki mast hücreleri, dolaşımdaki bazofiller, trombositler ve nöronlardan salınır. Havayolları üzerine en önemli etkisi bronkokonstrüksiyona neden olmasıdır. Bunun yanı sıra kapiller permeabilite artışına ve mukus sekresyonuna neden olur. Ayrıca eozinofillerin kemotaksisini sağlayarak enflamasyona katkıda bulunur (87).

## 4. Nitrik oksit (NO)

Öncelikli olarak havayolu epitel hücrelerinden indüklenebilir nitrik oksit ( iNOS) vasıtasıyla üretilen Güçlü vazodilatör bir maddedir. Ekshale havada atılan NO kortikosterid kullanmayan hastalarda havayolu enflamasyonunun önemli bir belirteçidir. Astım da inflamasyonla birlikteliğinden dolayı astım tedavisinin etkinliğini değerlendirmede kullanılmaktadır (88).

## 5. Prostanoidler

Büyük ölçüde mast hücrelerinden salınırlar ve havayollarına Th2 hücre toplanmasına neden olur (1). Bu grupta prostoglandinler ve tromboksanlar yer almaktadır. Araşidonik asitten siklooksijenaz (COX) enzimi aracılığı ile sentez edilirler. PGD<sub>2</sub>, PGF<sub>2α</sub> ve TxA<sub>2</sub>, bronkokonstrüksiyona neden olurken, PGE<sub>2</sub> ve Prostosiklin 2 (PGI<sub>2</sub>' nin bronkodilatör etkileri vardır (89).

### 2.4.4.3. Astım patogeneğinde Proteinaz/Antiproteinazlar

Proteolitik enzimler doku tamir ve remodellinginde önemli rol oynarlar fakat düzeyleri ve aktiviteleri inflamatuvar hücre fenotipine göre değişir (90). Matriks metalloproteinazlar (MMPs) metzincin süperailisine ait endopeptidazlardır (91). Bu büyük süperailenin üyelerinin katalitik aktiviteleri çinko iyonunun varlığına bağlıdır (bu nedenle adı metallo proteinazdır). MMP ailesi en az 26 üye barındırmaktadır, substrat spesifitesine göre gruplandırılmışlardır. Kollagenaz (MMP-1-8 ve 13) interstisyel kollagenin fibrillerini degrade etmektedir. Gelatinazlar (MMP 2-9) spesifik olarak kollagenleri ve BM daki

kollagen 4 ü denature eder. MMP' ler birden fazla düzeyde sıkıca regüle edilmektedir. 1-Gen transkripsiyonu 2-latent enzimin aktivasyonu 3-Spesifik inhibitörle inhibisyon Metalloproteinaz doku inhibitörü (tissue inhibitor of metalloproteinase-TIMP) MMP' lerin spesifik inhibitörüdür, aktive MMP' ye 1:1 molar oranda non kovalan olarak bağlanarak inhibe ederler. Bilinen 4 formu vardır. TIMP 1,2-4 solubl formdayken tip 4 ekstraselüler matriks (ECM) de bağlı bulunur (92).

Nötrofil, makrofaj ve epitel hücreleri gibi çeşitli hücre tipleri tarafından sentez edilirler (91). Tüm çalışmalarda astmatik havayollarında MMP-9 baskın olarak bulunmuştur. Normal kontrollere göre stabil astımlılarda balgamdaki BAL' da ve alveoler makrofaj kültürlerinde MMP-9 düzeyi artmıştır. Bunun aksine periferik kan granulositlerinde düzeyinde artma gösterilmemiştir. Astım atakları sırasındaki çalışmalarda artmış olan MMP-9 düzeyleri tedavi den sonra normal düzeylerine inmiştir (92). Eozinofilik astımlı hastalarda MMP-9 aktivitesi nötrofilik astımlı hastalar ve kontrol gurubuna göre anlamlı olarak artmıştır. Nötrofilik astımlı hastalarda nötrofil elastaz aktivitesi eozinofilik astımlı hastalar ve kontrol gurubuna ya da pausigranülositik astımlı hastalara göre anlamlı olarak artmıştır (90).

#### **2.4.4.4. Astımda Havayollarında Bulunan Yapısal Hücreler**

Havayolu epitel hücreleri, düz kas hücreleri, endotel hücreleri, fibroblastlar, myofibroblastlar ve havayolu sinirleri havayollarının başlıca yapısal elemanlarını oluştururlar. Havayolu yapısal hücreleri aynı zamanda inflamatuvar medyatörler üretirler ve inflamasyonun çeşitli yönlerde persiste etmesine neden olurlar.

##### ***a. Havayolu epitel hücresi***

Silli kolumnar hücreler, goblet hücreleri ve klara hücrelerinden oluşan havayolu epiteli, allerjik inflamasyonun oluşumu ve buna sekonder gelişen anatomik ve patolojik değişikliklerde önemli rol oynar. Doğumsal immüitenin de bir elemanı olan epitel gerek oluşturduğu fiziksel bariyer fonksiyonu gerekse salgıladığı sitokin ve diğer medyatörler aracılığı ile allerjik yangının ortaya çıkışını engelleyebildiği gibi allerjik hastalıkların özellikle de astımın gidişinde önemli etkisi olan remodellingin gelişimine katkıda bulunabilir. Allerjik enflamasyon yanında inhale edilen patojen ve uyarılara karşı uygun

savunma hücrelerin kemotaksisini de epitelyal hücrelerden salgılanan medyatörler sağlar (93).

Havayolu epiteli trakeadan alveollere kadar çok katlı silli epitelden oluşur. Silli epitel hücreleri sütunlar şeklinde dizilmişlerdir ve her hücrenin apikal yüzeyi yaklaşık 250 silia ve mikrovillus ile kaplıdır. Bu hücreler vücut savunmasında inhaler patojenler ve zararlı partikülleri sekrete edilen mukus yardımıyla trakeabronşial ağaçtan temizlenmesinde kritik bir rol oynamaktadırlar.

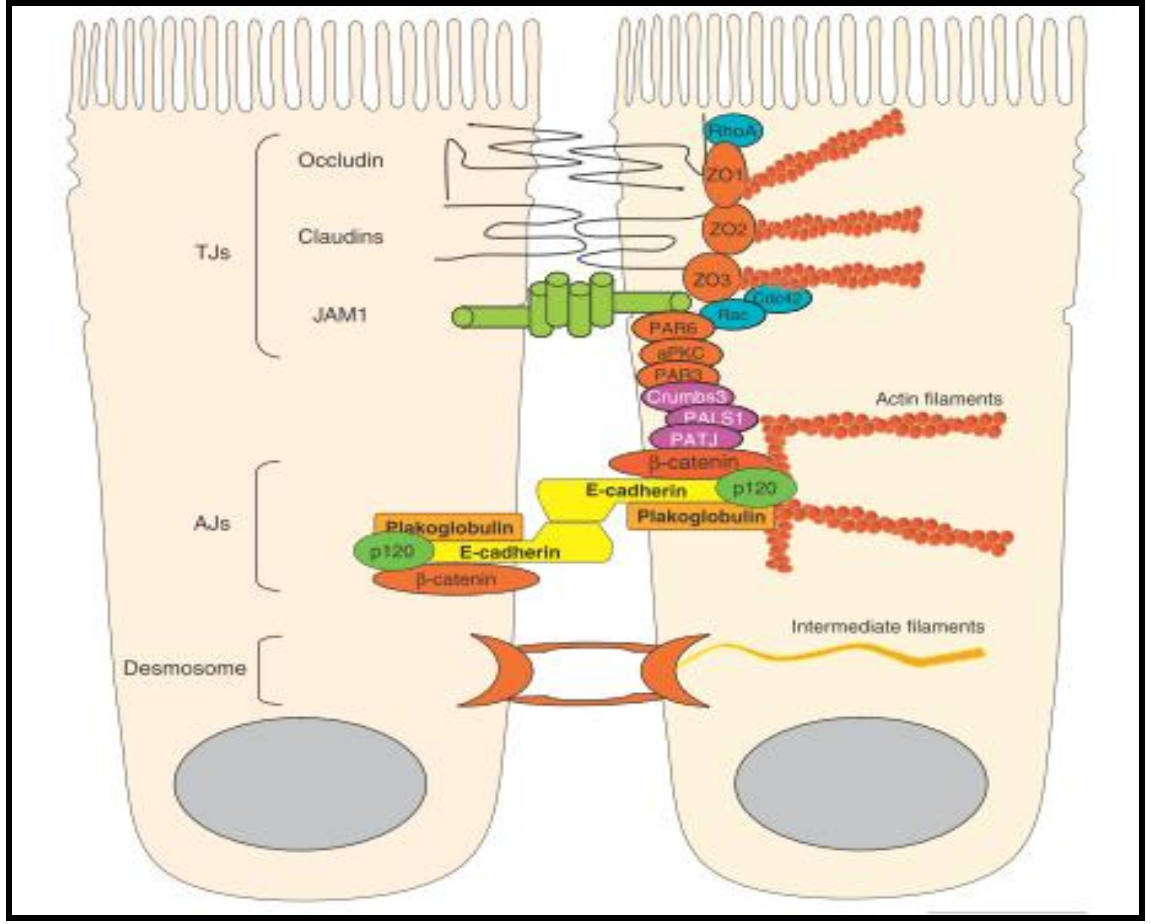
Goblet hücreleri silli hücrelerden daha az sayıda olup total epitel hücrelerinin %1' den azını oluştururlar, fakat sayıları kronik tahriş edici maddeye maruz kalma ve astımlı hastalarda artmaktadır. Metabolik olarak aktif hücrelerdir. Bu hücrelerin karakteristiği olan mukus granülleri primer olarak nötral müsün, silomüsün ve sülfomüsün içerir. Bunun aksine üst yolunum yolunun diğer sekretuar hücre tipi olan seröz hücreler nötral glikoprotein, lizozim, ve sekretuar IgA' dan zengin daha düşük viskoziteli sekresyon üretirler. Seröz ve mukus hücreler aynı zamanda büyük havayolları boyunca bulunan submukozal bezler boyunca da bulunmaktadır. Distal havayollarına doğru gidildikçe submukozal bezler kaybolur, silier hücre sayısı azalır ve sonunda kaybolur, epitel daha küboidal yapıda olur ve bazal hücreler ve clara hücreleri baskın hale geçer. Bronşial düzeyde clara hücreleri majör sekretuar roldedir.

Bazal hücreler göreceli küçük hücrelerdir. Adından da anlaşıldığı gibi havayolu bazal membranına (BM) bitişik olarak bulunurlar ve normalde lüminal yüzeye ulaşmazlar.

Havayolu epitel bütünlüğünü korumak için üç ultrastruktürel bileşen gereklidir. Sıkı bağlar (Tight junctions – TJs, Zonula occludens- ZO), intermediet junction (IJ - Zonula adherens) ve desmozom (makula adherens). Bu sıkı bağları içeren transmembran proteinler hücre iskeletinin bileşenleri ile bağlantılıdır (Şekil 3) (94,95). Epitelin fiziksel bariyer fonksiyonunun en önemli parçasını oluşturan sıkı bağlar, hücreler arası geçirgenliği belirler (96).

Sıkı bağlantılar epitel hücre apikal yüzeyi tıkar böylece apikal ve basolateral membran alanları ayrılır. Yaklaşık 40 kadar farklı protein TJ bileşeni olarak saptanmıştır. Ana integral TJ proteinler occludin, junction adhesion molecule (JAM)-1 ve claudinleri içerir (68). Sıkı bağların yapılarında bu proteinlerin yerleşimi incelendiğinde JAM, claudin ve occludinin transmembran yerleşimde olduğu gözlenir.

Occludin çevrede hücrelerle apoptozis açısından iletişim kurarken, tricellulin epitel hücreleri arasında bariyer fonksiyonunu sağlar.



Şekil 3. Epitel TJs bileşenlerinin şematik görünümü (94).

Claudin ise 24 farklı tipi vardır ve kalsiyumdan bağımsız hücre adhezyonunu, sıkı bağ fiberlerinin oluşumunu ve hücreler arası iyon seçiciliğini belirler (97). Claudinler tiplerine göre incelendiğinde Claudin 2 ve 10 hücreler arası geçirgenliği artırır, claudin 1,4,5,7,8,11,14,15,16,18 ve 19 hücreler arası bağı daha sıkı hale getirir, claudin 2,15,16,19 katyonlara geçirgenliği artırır, claudin 10a ise anyonlara geçirgenliği artırır (98).

JAM, homofilik ve heterofilik adhezyonu sağlar ve transendotelial migrasyona katkıda bulunur. Scaffolding proteinleri olarak da adlandırılan membran ilişkili guanine kinaz (MAGUK) ailesinden ZO-1, ZO-2 ve ZO-3, bir uçlarından occludin ve claudin ile doğrudan ilişkili iken diğer uçları ile actin fiberlerine bağlanırlar; bu nedenle de bariyer fonksiyonunun oluşumunda doğrudan rol oynarlar (97).



## 1. Intermediate junctionlar (İJ)

Intermediate junctionlar hücreyi çevreleyen ve hücrelerarası boşluk genişliği 25-35 nm olan adherans yapılarıdır. Nectin-afadin ve E-Cadherin-catenin kompleksleri olarak adlandırılan iki temel adhezif parçadan oluşur.

### I. Nectin

Hem adherens hem de sıkı bağlar için ilk yapıyı oluştururken onun bağlandığı afadin aktin filamentlerine bağlanır.

Cadherin ve  $\beta$ -catenin ise adeziv fonksiyonlar için önemlidir ve interselüler motiliteyi düzenler (97).

### II. E-Cadherine

E-cadherine epitel hücreleri arasında  $Ca^{++}$  bağımlı homotipik yapışıklık şeklinde ekstraselüler domain ve yüksek derece korunmuş sitoplazmik kuyruktan oluşur. Bu yapısal sitoplazmik domain p120 catenin,  $\beta$ -catenin ve  $\alpha$ -catenin proteinleri aracılığıyla membrana sabitlenmiştir, bu şekilde mikrotubul ve aktin hücre iskeletine bağlanmıştır. Cadherin aracılı bazolateral bölüm hücre hücre bağlantılıdır, bu yapı desmozom olarak adlandırılır ve dokuya mekanik destek sağlar. E-Cadherinin hücre yapısı ve diğer TJs yapılarının devamı için gerekli olduğu düşünülmektedir. E-cadherin epidermiste düzgün bir şekilde eksprese edilmediği zaman TJ proteinleri ZO-1, occludin ve claudin delokalize olmakta, TJs distorsiyone yapıda olmaktadır. Bu data AJ proteini E-Cadherinin havayolu epitelinde epitelyal hücre hücre idamesinin sürdürülmesinde ve kurulmasında çok önemli bir düzenleyici olduğunu göstermektedir (Şekil 4). E-Cadherinin çevresel uyarılara yanıt düzenlemesi, epitelyel fenotip ve bariyer fonksiyonu düzenlemesinin ötesine uzanır. Havayolu epiteli immün sistemin bir parçasıdır ve çevresel tetikleyicilere karşı immün yanıtta belirgin şekilde düzenleyici rol alır. E-cadherin ekspresyon induksiyonu (Nükleer faktör kappa B) NF- $\kappa$ B aktivasyonunu baskılayarak E-Cadherin aracılı hücre hücre bağlantısı kaybında kanserli hücre hatlarındaki gibi NF- $\kappa$ B sinyali uyarılır. Böylece E-Cadherin ekspresyonu ve NF- $\kappa$ B aktivitesi arasındaki denge epitelyal hücrenin tolerejenik ve proinflamatuvar/immunojenik fenotip olmasına neden olur (94).

## **2. Desmozomlar ve hemidesmozomlar**

Özellikle kolumnar epitel hücrelerinin yan yüzeyi boyunca özellikle hücre apeksine doğru bulunur ve kolumnar ve bazal hücreler arasında bağlantı sağlar. Kolumnar hücreler bazal membranla adeziv bağlantı kurmazlar ancak desmozomal eklerle bazal membrana bağlantı yaparlar.

Hemidesmozomlar, BM' da bazal hücreleri ekstraselüler matrikse bağlarlar. Primer olarak integrinleri içerir. Adezyon yanında hücre sinyal yollarında da rol oynayabilir (94).

### ***b. Havayolu düz kas hücreleri***

Havayolu düz kas hücreleri hem astım yanıtında hedefirler (bronkokonstrükiyona bağlı havayolu obstrüksiyonu) hem de proinflamatuvar sitokinler salgırlar. Bunun sonucunda havayolu inflamasyonu ve büyüme faktörlerinin üretimi, havayolu düz kas hücre proliferasyonu, aktivasyonu, kontraksiyonu ve hipertrofisi olur. Ve astımda havayolu disfonksiyonu olarak etkileyebilir (3). Astımda bronşial hiperreaktivite ve tekrarlayan bronkospazmlar hastalığın ağırlığını belirler. Bronşial hiperreaktivitenin nedenleri kesin olarak bilinmese de havayolundaki düz kas kalınlığındaki artışın primer olarak bu durumla ilgili olduğu düşünülmektedir. Düz kas hücreleri hipertrofiye uğrayarak remodeling sürecinde de görev alırlar (98).

### ***c. Endoteliyal hücreler***

Epitel hasarının tamiri esnasında subepitel tabakasında anjiogenez artar, bronşiyal dolaşımın endotelyal hücreleri dolaşımdan havayollarına doğru inflamatuvar hücrelerin toplanmasında rol alır.

### ***d. Fibroblast ve myofibroblastlar***

Havayolu remodelinginde rol oynayan kollagen ve proteoglikan gibi bağ dokusu komponentlerini üretirler (1).

### ***e. Havayolu sinirleri***

Havayollarındaki kolinerjik sinirler refleks olarak tetiklenerek aktive olabirler. Bronkokonstrüksiyon ve mukus sekresyonuna neden olurlar. Nörotrofinler gibi inflamatuvar

uyarılarla duyarlı hale gelebilen duyuşal sinirler, refleks yanıtla ve öksürük, göğüşte sıkışma hissi gibi semptomla yol açabilir ve inflamatuvar nöropeptidler salınabilir (1).

#### **2.4.4.5. Astımda immünopatogenez**

Astım değişik klinik spektrumda ve farklı hücreşel yapıda gözlenebilir. Eozinofillerin en belirgin olduğu, nötrofillerin, CD4 T lenfositlerin ve mast hücrelerinin dahil olduğu havayolu inflamasyonu mevcuttur. Semptomlar epizodik olsa da astımdaki havayolu inflamasyonu sürekli ve astım şiddeti ile inflamasyonun yoğunluğu arasındaki ilişki de net olarak gösterilememiştir. Hastalıkta hem distalde hem de proksimalde, küçük havayollarının da dahil olduğu şiddetli ve kronik havayolu inflamasyonu görülür. Havayollarındaki düz kaslar dışında inflamatuvar cevap küçük havayollarında baskındır. Oysa büyük havayollarında inflamasyon submukozada hakimdir (67). Havayollarındaki inflamasyon paterni alerjik, nonallerjik, veya aspirinle indüklenen olmak üzere astımın bütün klinik formlarında ve bütün yaş gruplarında benzer görünmektedir (1,3). Havayolu inflamasyonunun derecesi hastalığın şiddetine, tekrarlama sayısına göre değişkenlik gösterir ve hastanın tedaviye cevabını belirleyebilmektedir. Astımda inflamasyonun şekillenmesinde astımlı kişinin genetiği ve kişinin yaşadığı çevre belirleyici faktörlerdir. İntrauterin yaşamda ve hemen doğumdan sonra immün sistemin Th2 yönünde olduğu saptanmıştır. Yaşamın erken dönemlerinde geçirilen infeksiyonların ve endotoksin maruziyetinin immün sistemi Th1 yönlendirdiği, mikroorganizmalar ile az karşılaşmanın ise tercihi Th2 tipine yönlendiği görüşü hijyen teorisinin temelini oluşturmaktadır. (99,100). Astımdaki inflamasyonda Th2 hücreler hakimdir. (67). Alerjik hastalıkların immünolojik temeli iki fazlıdır:

1-Sensitizasyon fazı; naiv T hücreye antijen sunumu, IgE üretimi, hafıza B ve T hücre cevaplarının oluşumu.

2-Efektör faz; doku inflamasyonunu ve hasarının ortaya çıkması.

**1-Sensitizasyon Fazı:** Allerjen ile karşılaşan DH antijeni hücre içine alır, işlemden geçirir ve MHC-II eşliğinde CD4+ Th2 reseptörüne sunar. Bu yolla naiv CD4+ Th2 hücreler IL-4 ve IL-13 üreten Th2 tip efektör hücelere farklılaşırlar ve klonal olarak çoğalırlar. Üretilen IL-4 ve IL-13 etkisiyle B hücreleri tarafından allerjene özgü ε ağır zincir (FcεRI) üretilmesi için class switching olur. B hücreleri tarafından üretilen allerjen

spesifik IgE' ler mast hücre ve bazofil yüzeyinde FcεRI resptörlerine bağlanarak sensitizasyon sağlanır. Bu basamakta allerjene özgü T ve B hücrelerine ait bir bellek havuzu da oluşturulur (101).

Solunum yolunda antigen sunan hücreler dendritik hücrelerdir. Allerjen duyarlılığında temel özellik, inhale allerjenin girişi ve havayolu epiteli ve submukoza içinde bulunan dendiritik hücreler tarafından işlenişidir (67,100). CD4+ T hücreyi Th1, Th2, Treg, veya Th17 fenotipinde hücre çeşitlerine dönüşmek üzere yönlendirir. DH astım patogenezinde doğal ve adaptif immün sistem arasında köprü görevini görür (102). Allerjen girdikten sonra yüksek afiniteli IgE reseptörleri içeren dendiritik hücreler atağa geçer ve DH' ler doğrudan epitel ve altındaki mukozaya göç eder.

DH epitel hücrelerinin ürettiği birtakım sitokinler tarafından da indirek olarak uyarılır. Yüzeyinde Toll like reseptör (TLR), C tip lektin reseptörler (CLR) ve protease-activated receptor (PAR) taşıyan epitel hücresi allerjenle karşılaştığında bu reseptörler aktif hale gelir ve epitel hücresi tarafından Th2 tipinde hücre oluşumunu sağlayan timik stromal lenfopoyetin (TSLP), GM-CSF, IL-33, IL-25 ve dendritik hücreyi akciğere yönlendirecek Th2 tip kemokinler (CCL17) ve CCL22) ile kemokin reseptör 4 (CCR4)) salgılanır (71,103,104).

DH inhale edilen antijeni Toll-like reseptörler (TLR), nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon domain-like reseptörler (NLR) ve CLR yoluyla tanır, internalize ederler ve Katepsin S ile işlenerek küçük peptid yapılara dönüştürülen allerjenler, MHC-II eşliğinde bölgesel lenf nodunda naiv CD4+ T hücre reseptörüne (TCR) sunulmaktadır (67,102). T hücrelerinin antijen bağımlı aktivasyonunda dendritik hücrelerdeki CD80 ve CD86 ile T hücrelerindeki CD28 ya da DH' deki OX40L ın T hücre üzerindeki OX40 ile bağlantısı ortamdaki düşük IL-12 ve yüksek IL-4 varlığında T hücrelerinin Th2 fenotipinde farklılaşmasına, duyarlanmaya neden olur. Eğer immünolojik bağlantıda ikincil uyarıdaki eksiklik (CD80/86 ile T hücre üzerindeki sitotoksik T-lenfosit antigen-4 (CTLA-4) bağlantısı olması gibi) ya da yokluk söz konusuysa anerji ya da T hücre apoptozu gerçekleşir (100).

Ko-stimülatör moleküller arasında OX40L selektif olarak büyük ölçüde epitel üzerindeki TLR aktivasyonunu izleyerek salgılanan IL-7 benzeri bir sitokin olan TSLP tarafından upregule edilir. Yeni tanımlanmış bazı epitel kaynaklı sitokinlerinde Th2 yönünde etkinleşmede rol aldığı gösterilmiştir. Bunlar IL-1 ve IL-18 ailesi üyesi olan IL-

33 ve IL-17 nin altı üyesinden biri olan IL-25 sitokinleridir. Her üç sitokin de allerjik yanıtın efektör hücreleri olan mast hücresi, bazofiller, eozinofiller ve endotelial hücrelerin inflamatuvar fonksiyonlarını arttırlar (100).

DH bir yandan patojenlere ve allerjenlere karşı güçlü bir immün yanıt oluştururken diğer yandan da bazı maddelere karşı tolerans oluşumunu sağlar. İnsan akciğerindeki DH anatomik dağılımı ve tiplendirmesi tam olarak bilinmese de plazmasitoid ve konvansiyonel olmak üzere iki çeşit DH vardır. Özellikle plazmasitoid DH toleransı indükler böylece allerjik sensitizasyon ve astım gelişimi önlenir (100).

**2-Efektör faz:** Eğer atopik kişi duyarlı olduğu allerjenle tekrar karşılaşırsa yani sahip olduğu allerjen spesifik IgE'lerin bağlanabileceği antijenlere maruz kalırsa bu antijenler yüksek afiniteli IgE reseptörü taşıyan (FcεRI) mast hücresi, bazofil, makrofaj, monosit, dendritik hücre ve düşük afiniteli IgE reseptörü taşıyan (FcεRII=CD23) lenfosit, eozinofil, epitel hücresi, trombosit ve makrofajlara bağlanır. Mast hücreleri erken faz semptomların oluşmasında majör hücreler olarak kabul edilmektedir. Allerjen ile mast hücre yüzeyindeki IgE bağlanması köprüleşme şeklinde olursa mast hücresi uyarılması için gerekli sinyal IgE- FcεRI aracılığıyla mast hücre (veya bazofil) içine ulaştırılır ve saniyeler ile dakikalar içinde ortama daha önceden sentezlenmiş mediatörlerden histamin, proteoglikan ve proteaz salınımı olur hem de yeni mediatör sentezi başlar. IL-4, TNF ve IL-6 gibi sitokinlerin transkripsiyonu gerçekleşir. Ayrıca daha önceden sentezlenmemiş olan PGD<sub>2</sub>, PAF, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub>, kemokinler (CXCL8 (IL-8), CXCL10, CCL2, CCL4, CCL5) ve diğer sitokinlerin IL-4, IL-5 ve IL-13) sentezi başlar. Saniye ve dakikalar içinde histamin salınımı ile ortaya çıkan reaksiyonlara “ tip 1 hipersentivite reaksiyonu” denir ve erken tip hipersentivite adıyla da anılır ve astımdaki erken faz yanıtını oluşturur (101).

Salgılanan mediatörler bronş düz kas kasılması, damar yatağı geçirgenlik artışı ile birlikte ödem, vazodilatasyon, sekresyon artışı bronş-bronşiyol lümeninde daralmaya neden olur ve duyuşal sinir liflerini ve mukus sekresyonunu stimüle ederler. Bu yanıtlar serbestleşen maddelerin yarılanma ömrü ile birlikte 1-1.5 saat kadar sürer. Erken cevaptan 6-8 saat sonra asıl olarak hücrel elemanların rol aldığı geç faz yanıt gözlenir. Astımda inflamasyon, geç evre reaksiyonu sonucunda ve pek çok hücrenin birbiri ile kompleks etkileşimi ile ortaya çıkar. Havayolu inflamasyonunun

karakteristik özelliği havayolu mukozasında ve lümende artmış miktarda aktive olmuş eozinofil, mast hücresi, makrofaj ve T-lenfosit içermesidir.

Bu olaylar gerçekleşirken antijen sunumu sırasında bu allerjenlerle beraber salgılanan diğer maddeler doğal immün sistemi aktif hale getirme kapasitesine ve sentezlenen transkripsiyon faktörlerine bağlı olarak mikroçevrede salgılanan sitokinler aracılığıyla CD4+ naiv T hücreleri Th1, Th2, Th9, Th17 ve Th22 tipinde hafıza ve efektör hücrelere dönüşür ve bu hücre tipleri farklı inflamatuvar cevaplara neden olur (105, 106).

Genetik olarak yatkın kişilerde allerjenlerin varlığında pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) ve danger-associated molecular patterns (DAMPs)' a düşük düzeyde maruziyet allerjik yanıtın artmasına neden olur. Aksine yüksek doz maruziyet (çiftlik yaşamı, gelişmekte olan ülkelerdeki kırsal alan, geleneksel beslenme) allerjenik toleransa neden olur. İmmünolojik yanıtın azaltılması ve allerjen toleransın uyarılması T reg hücreler tarafından düzenlenir (100). T reg hücreler forkhead box protein 3 (Foxp3) transkripsiyon faktörü, CD4 ve CD25 ekspresyonu gösterirler. Bunların hem doğal (timüs kaynaklı ya da nTreg) ya da indüklenebilen (Treg1 ya da iTreg) formları vardır. T reg hücreler allerjik yolu IL-10 ve TGF-  $\beta$  salgılayarak etkilerler.

- a. Efektör T hücrelerinin programlanmasında DH lerin baskılanması
- b. Th1, Th2 ve Th17 hücrelerin doğrudan inhibisyonu
- c. Allerjen spesifik IgE nin baskılanması ve IgG<sub>4</sub> ün indüksiyonu
- d. Mast hücre, eozinofil ve bazofillerin inhibisyonu
- e. Hedef dokuya efektör T hücrelerin göçünün engellenmesi

Allerjen spesifik immünotepinin (ASİ) amacı hastaya gidrek artan dozlarda allerjenin verilmesiyle Treg hücrenin o antijene karşıfonksiyonel kapasitesini arttırmak ve allerjenin oluşturduğu proliferatif cevabı ve sitokin cevabını azaltmaktır. Şiddetli ve kronik astımda Th1 hücrelerden salgılanan IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  bulunmaktadır. Th1 ve Th2 yanıt arasındaki bu denge şiddetli hastalıkta doku hasarına neden olan immun cevabı belirler. Şiddetli astım ataklarında ve infeksiyonlarla olan astım alevlenmelerinde Th1 hücreler suçludur. Bu mekanizma hala tam olarak bilinmemektedir (67, 100).

#### **2.4.4.6. Astım subfenotiplerinde yeni T hücre kümeleri**

##### **a. Th9**

Th9 hücreleri T-bet, GATA-binding protein 3(GATA3), retinoic acid–related orphan receptor  $\gamma$  (ROR $\gamma$ )t ve Foxp3 gibi iyi tanımlanmış bir transkripsiyon faktörü salgılamazlar. Fare çalışmalarında mukus üretimini hem havayolu epiteline doğrudan etkiyle hem de IL-13 ile etkileşerek arttırdıkları subepitelyal fibroziste rol aldıkları gösterilmiştir. Mast hücre gelişiminde güçlü uyarıcıdırlar (100,107).

##### **b. Th17 hücreler**

Th17 hücreleri karakteristik olarak IL-17A, IL-17F ve IL-22 salgırlar. IL-17A ve IL-17F epitel ve endotelial hücreler, fibroblastlar, nötrofiller ve eozinofillerden hem IL-6, GM-CSF, CXCL10 hem de CXCL8 salınımını uyarırlar. Güçlü bir nötrofil kemokini olan CXCL8 şiddetli astımda havayolu sekresyonlarında artmıştır ve nötrofilik havayolu inflamasyonunda Th17 hücrelerin doğrudan sorumlu olduğu düşünülmektedir. Th17 hücrelerin otoimmün hastalıklar ve psöriazisteki hem nötrofilik hem de makrofaj inflamasyonunun düzenlenmesindeki rolleri gösterilmiştir. Son zamanlarda astım ve kortikosteroid duyarsızlığında rolü olduğu düşünülmektedir (100).

##### **c. İnvaryant natural killer T hücre**

Havayolu hiperreaktivitesinde İNKT hücreler Th2 hücrelerle ya da adaptif immüniteden bağımsız olarak rol aldığı düşünülmektedir. İNKT hücreler olasılıkla astmatik fenotipin düzenlenmesinde role sahiptir fakat astmatik yanıtı değiştirecek düzeyde öneme sahip değildir (100).

#### **2.4.4.7. Astımda Havayolu Moleküler Fenotipi**

Bronşial astım tek bir hastalık değildir. Klinisyenler yıllardan bu yana farklı fenotipler tanımlasalar da bunların karakteristik özellikleri zayıf kalmıştır. Son dönemlerde immünopatolojik sürecin daha iyi anlaşılmasıyla en azından dört farklı fenotip tanımlanmıştır: Eozinofilik, nötrofilik, paucigranülositik ve steroid rezistan astım (90). Eozinofiller ve nötrofiller ile solunum yollarının hücresel inflamasyonu astımın karakteristik bir özelliğidir ve hastalığın patogenezi ile ilgili olarak kabul edilir (108).

### ***a. Astımda eozinofiller***

Astımda görülen periferik kan ve havayolları sekresyonlarında eozinofil sayılarındaki artış astımın karakteristik özelliğidir. Bousquet ve arkadaşları astımlı hastalarda periferik kan ve BAL' daki eozinofil sayılarını hastalığın şiddetiyle ilişkili olduğunu göstermişlerdir (109). Persistan eozinofilik inflamasyon daha sıklıkla aspirine duyarlı astımda ve erişkin astımında görülür (110). Eozinofil ve astım şiddetinin sonuçları arasındaki bu ilişki bir çok çalışmada doğrulanmıştır (108). IL-4, IL-5, IL-13 gibi Th2 sitokinleri astım hayvan modellerinde havayolu eozinofilisini indüklerler ve bu sitokinler astım olan bireylerde eozinofilik mediatörler olarak kabul edilirler. Kavramsal olarak astımı olan bireylerin en büyük alt grubunu oluşturan atopik astımlı bireylerin, CD4+ Th2 hücreler tarafından salgılanan Th2 sitokinlere bağlı olarak havayollarına eozinofiller toplanır. Her durumda, eozinofiller subepitelyal fibrozis sorumlu olabilir. Eozinofilik inflamasyonu belirgin olan hastalarda diğer patolojik fenotiplere göre semptomların daha ağır ve atak riskinin daha fazla olduğu ve hastalık kontrolünün daha zorlaştığı düşünülmektedir (90). Eozinofilik inflamasyon belirgin olmasına rağmen, anti IL-5 ve eotaksin'in inhibisyonuna yönelik tedaviler klinikte bu hastalarda pek fayda sağlamamıştır (111). Ancak eozinofilik inflamasyonun hastalarda kalıcı bir durum mu yada kullanılan tedaviye veya hastalığın kontrol seviyesine göre değişen bir durum mu olduğu henüz tam olarak bilinmemektedir.

### ***b. Astımda nötrofiller***

Astım hastalarında yapılan patolojik çalışmalar eozinofilik inflamasyonun tüm hastalar için karakteristik olmadığını, bir bölüm hastada nötrofillerin tabloya hakim olduğunu göstermiştir. Genel olarak, nötrofil ile ilişkili astım, daha agresif hastalığa, daha fazla doku hasarına ve daha ağır havayolu remodellingi olma eğilimindedir (90). Nötrofilik astımda nötrofil elastaz aktivitesi ve remodelling daha belirgindir, bu nedenle fiks obstrüksiyon görülür. Ancak ilginç olarak nötrofilik astımda eozinofilik astıma göre daha az sayıda ve daha hafif ataklar görülmektedir (112). Etanercept, p75 TNF- $\alpha$  reseptör fusion protein uygulamasıyla (TNF- $\alpha$  nötrofiller için potent kemoatraktanttır) bazı hastalar klinik fayda sağlamışlardır (90). Nötrofil sayıları hafif ya da orta ağırlıklı astımda havayolları sekresyonlarında artmazlar. Ağır astımlı hastaların havayolu lavajlarında normalden yüksek oldukları gösterilmiştir (108). Ağır astımla ilişkili bulunması, tedavide



kullanılan yüksek doz kortikosteroidlerin nötrofil apoptozisini azaltması ile açıklanmaktadır Havayollarındaki nötrofil sayısında artış ağır astım hastaları dışında dışında astım akut alevlenmeleri sırasında havayollarında sekresyonlarında da gösterilmiştir (108). Nötrofilik astım aynı zamanda infeksiyonla birlikteliği vardır (90). Entübe edilmiş status asthmatikuslu hastaların bronşial lavajlarında yüksek IL-8 düzeyleri ve yüksek nötrofil sayıları bulunmuştur. Aynı şekilde akut astım atağı ile entübe edilen hastaların trakeal aspiratlarındaki nötrofil sayıları normalden on kat daha fazla bulunmuştur. (108).

### *c. Paucigranulocytic asthma*

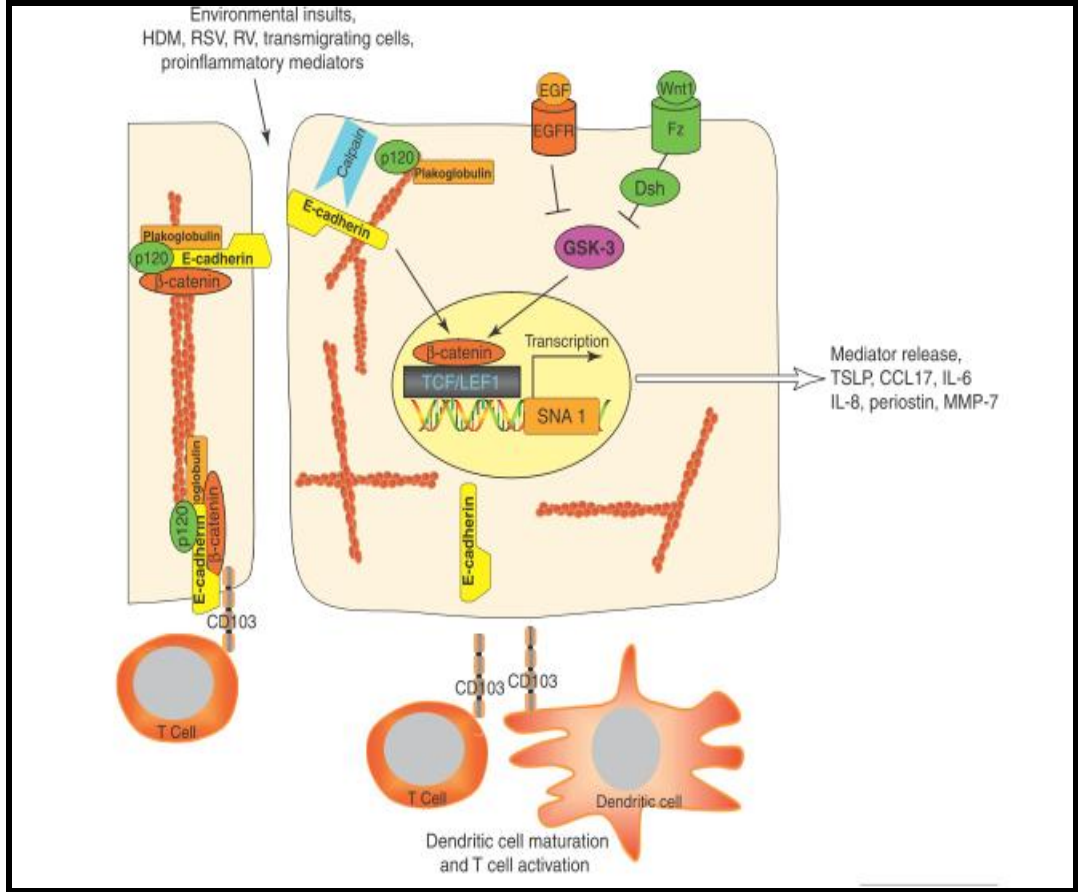
Astımda hastaların balgamlarında hem eozinofil hem de nötrofillerin yokluğu ve normal düzeyde proteolitik enzimlerin bulunduğu hastalar paucigranülositik olarak adlandırılır.

#### **2.4.4.8. Astımda Havayolu Epitel Değişiklikleri**

Epitelyal fragilite astımın karakteristik özelliğidir. Epitel hücre kalıntı kümeleri (Creola bodies) astımlı bireylerin balgamında mevcuttur ve astım alevlenmeleri sırasında bunların sayısında artış görülür. Bazı biyopsi örneklerinde BM' a kadar uzanan epitel kaybı gösterilse de ayrışma daha çok muhtemelen desmozomal bağlantıların bozulmasına bağlı olarak kolumnar ve bazal hücreler arasında gerçekleşir. Astımda deskuamasyonun derecesi AHR ile korele olarak bildirilmiştir ve epitelyal dökülme kortikosteroid tedavisi ile azaltılmaktadır (Şekil 4) (94, 113).

Astımda kolumnar hücrelerin selektif kaybı ve epitelyal hasar mevcuttur (96). Astımlıların epitelyal fragiliteye eğilimli olmalarını nedeni tam belli değildir fakat hasara neden olabilecek bazı faktörler belirtilmiştir. Bazı solunum yolu virüsleri, çevresel kirlenmeler örneğin ozon, sigara dumanı, major basic protein (MBP), eozinofil peroksidaz ve eozinofil katyonik protein (ECP) gibi eozinofil derive proteinler, endojen sitokinlerden IL-13 ve TNF- $\alpha$ , ekzojen etkenlerden Dermatophagoides pteronyssinus-1 (Derp-1), fungal allerjenler epitelyal hasar nedenidirler (96, 113).

Epitel hücresi remodellingde iki farklı uyarı sistemi ile katkıda bulunur. Birincisinde allerjik inflamasyondan bağımsız olarak genetik yatkınlığı olan bireylerde tekrarlayan allerjen, toksik gaz ve viral enfeksiyon maruziyeti gibi epitel hasarı oluşturan uyarıların varlığında epitel tamirinin tam ve yeterli olmasına izin vermez.



**Şekil 4.** Epitel hücrelerinde immünolojik fonksiyon ve bariyer fonksiyonunun integratörü olarak E-cadherinin rolü

Tamamlanamayan tamir mekanizmaları sonucunda, yaygın epitel dökülmesi meydana gelir. Bunun sonucu olarak epitelden bazı sitokinler ve büyüme faktörleri salınır. Bunların en önemlilerinden bir tanesi TGF-β' dır. Bu faktör epitel altındaki submukozada yerleşmiş olan fibroblastların miyofibroblastlara dönüşümünü sağlaya başlıca faktördür (114,115). DH ile epitelden salınan IL-4, IFN-γ ve TNF-α gibi pro-enflamatuar sitokinler, NF-κB, ile AP-1 gibi transkripsiyon faktörleri, STAT1 ve STAT3 gibi transkripsiyon arttırıcılar enflamasyonun başlamasına ve giderek şiddetlenmesine neden olur (114).

Proteolitik olarak aktif olan allerjenler doğrudan ya da dolaylı olarak E-Cadherin aracılıklı bağlantıyı proteolitik aktiviteyle ve PRRs aktivasyonunu indükleyerek bozarlar. House dust mites (HDM), hamam böceği, mantarlar, kedi ve polen gibi çeşitli allerjenler proteaz aktivitesine sahiptirler. HDM, TJ proteini occludin ve daha az olarak E-Cadherinin

proteolitik ayrışmasını indükler. Benzer şekilde ağaç ve polen peptidazları da TJ' larda bozulmaya neden olur.

Doğrudan proteolitik ayrışmaya ek olarak HDM, hamam böceği, mantar ekstraktları PAR-2 aktive ederler. PAR-2 aktivasyonunun insanlarda primer olarak havayolu epitelindeki E-Cadherin bağlantılı hücre hücre adezyonunda kayba neden olduğu gösterilmiştir (94).

İkinci uyarı sistemi allerjik inflamasyona sekonder olarak gerçekleşir. Epitel hücresi, T hücre (Th2) ve makrofajlarda salınan IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-4 ve IL-13 gibi sitokinlerin varlığında aktive olur. Bunun sonucunda allerjik inflamasyonun artmasına ve devamına neden olacak sitokin ve ürünler salgılar (114, 115).

Epitelin astım patogenezindeki bir diğer önemli rolü de mezenşim ile ilişkisidir ve bu iki yapı arasındaki ilişki sonucunda sitokin ve büyüme faktörleri salgılanır; bu yapı epitelyal mezenşimal trofik ünite (EMTU) olarak adlandırılır (116).

#### **2.4.4.9. Astımda Havayolundaki Yapısal Değişiklikler**

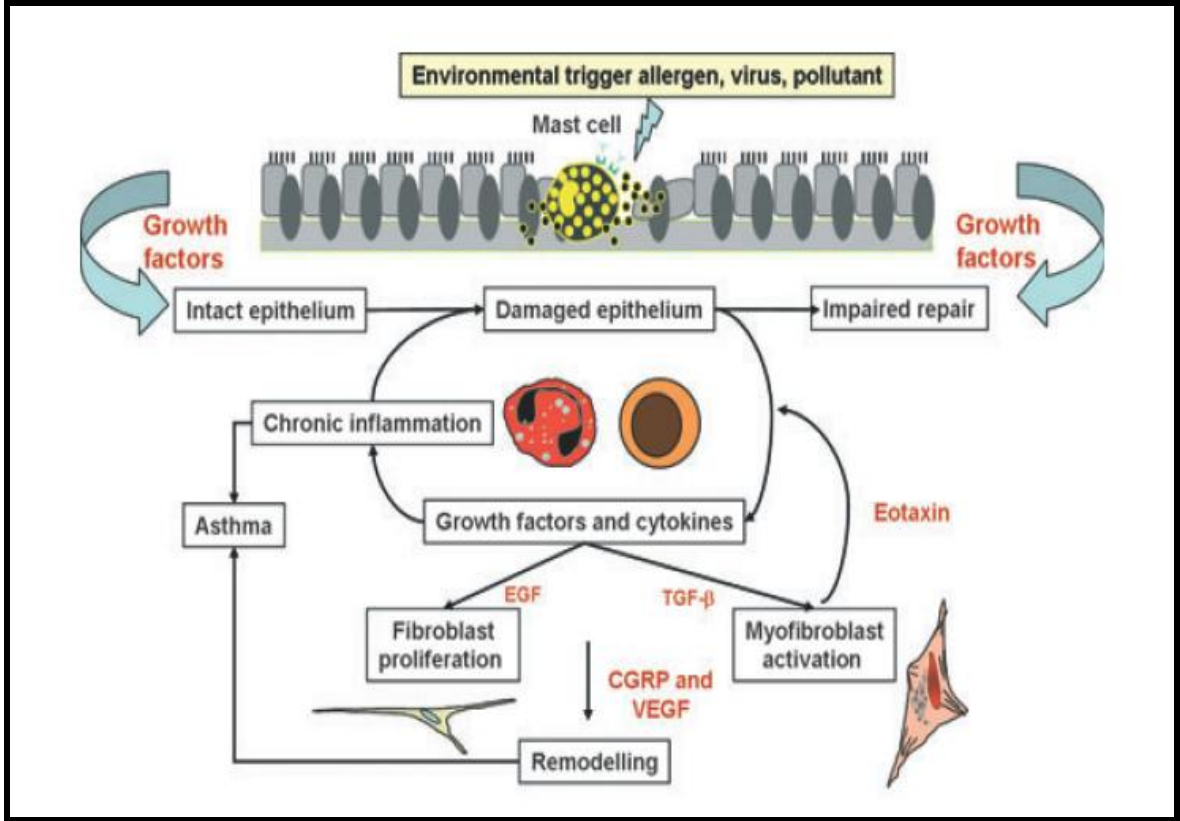
Sağlıklı çocukların solunum epiteli, hasar ve tamir mekanizmaları ile sürekli olarak yenilenir (96). Uyarının süresi ve şiddeti tamir mekanizmalarını etkiler (117). Normal koşullarda havayolu epitelinde ortaya çıkan hasar intrensek onarım mekanizmalarını uyararak primer iyileşme ile sonuçlanır. Ancak onarım mekanizmalarında bir bozukluk varsa kronik yara senaryosu ortaya çıkar ve remodelling sürecine katkıda bulunan sekonder iyileşme oluşur (116). Astımlı çocuklarda epiteldeki yapısal veya fonksiyonel bozukluklardan dolayı inhalen etkenlere abartılı ve anormal yanıt geliştirilmektedir. Bu noktada astıma duyarlı genlerin çevresel faktörlerden etkilenecek patolojik olaylar zincirini başlattığı düşünülmektedir. Transkripsiyonel değişiklikler doku tamir mekanizmalarının bozulmasına, kronik enflamasyon ve remodeling sürecinin başlamasına ve sonuçta astım kliniğinin oluşmasına neden olur (96).

Astımda dokudaki Th2'ye bağlı enflamatuar yanıt 7 gün içinde gerilerken, matriks oluşumu miyofibroblast sayısına ve artışına bağlı olarak uzun süre devam eder. Lamina retikulariste hiyalinizasyon ve kalınlaşma ile birlikte subepitelial bölgede anjiogenez başlar (117). Hastalığın prognozunu belirleyen eozinofilik infiltrasyondan ziyade lamina retikularisteki kollajen birikimi ve eşlik eden fibroblast proliferasyonudur (118).

Sonuçta, astımda kollajen yapımı ve yıkımı ile denge sağlanmaya çalışılsa da kollajen birikimi ya da yapılan kollajenin yıkılamaması bazal membran kalınlaşmasına neden olur ve olay fibrozis ile sonuçlanır (118). Fakat, astım kliniğinin ve ağırlığının tüm bu patolojik değişimler ile açıklanmaya çalışılmasına rağmen bazal membran kalınlaşması ile hastalığın ağırlığı ile aralarında doğrudan bir ilişki henüz gösterilememiştir (119).

Remodelling havayollarının yapısal elamanlarının geçirdiği değişiklikler sonucu meydana gelir (115). Yaygın epitel hasarı sonucunda gelişen ve remodeling olarak tanımlanan olaylar dizisinde ekstraselüler matriksin yeniden yapılanması olur.

Goblet hücre hiperplazisi ve metaplazisi, mukus aşırı yapımı, bazal membran kalınlaşması olur, düz kas hipertrofisi, anjiogenez ve havayolu duvar kalınlığında artma gibi patofizyolojik değişiklikler görülür (Şekil 5). (116,120).



Şekil 5. Persistan inflamasyon ve Havayolu duvarı remodellinginde epitelial-mezenşimal iletişim ilişkisi (epithelial-mesenchymal trophic unit)

### ***a. Subepitelyal fibrozis***

BM altında proteoglikan ve kollagen fiberlerin depolanması sonucu oluşur ve çocuklarda dahil olmak üzere tüm astmatik hastalarda semptomlar başlamadan önce bile görülür fakat tedaviden etkilenebilir. Fibrozis havayolu duvarının diğer tabakalarında da proteoglikan ve kollagen depolanması şeklinde görülür (1). Matriks komponentleri ‘matriks metalloproteazları’ olarak adlandırılan proteazlar ile yıkıma uğrar. Bu da inflamatuvar hücrelerin ekstrasellüler matrikste hareketini kolaylaştırır. Matriks metalloproteazları IL-1 $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , Platelet derived growth factör (PDGF), TGF- $\beta$  ve FGF- $\beta$  gibi uyaranlara cevap olarak sentezlenir (115). MMP-9 ve TIMP için remodellin sürecini etkileyebilecek iki karşıt mekanizma vardır. Birincisi MMP-9 un TIMP-1 den daha fazla olması durumunda inflamasyona neden olacak ECM düzensiz yıkımı ve yara iyileşmesi olacaktır. İkincisi TIMP-1 in MMP-9 dan fazla olması durumunda ECM dönüşümü yavaşlayacaktır, buda BM kalınlaşmasına neden olabilecektir (121).

### ***b. Havayolu düz kas hücreleri***

Hipertrofi ve hiperplaziye bağlı olarak artar ve havayolu duvar kalınlığının artmasına katkıda bulunur. Bu süreç hastalığın ağırlığı ile büyüme faktörleri gibi inflamatuvar medyatörlerle ilişkilidir.

### ***c. Kan damarları***

HY duvarlarındaki kan damarları VEGF gibi büyüme faktörlerinin etkisiyle çoğalır ve havayolu duvar kalınlığının artmasına katkıda bulunur.

### ***d. Mukus hipersekresyonu***

Submukozal bezler ve havayolu epiteli goblet hücrelerinin sayısının artması sonucunda olur (1,117).

## **2.5. Astım Tanısı**

Astım tanısının temeli anamneze dayanmaktadır. Diğer yöntemler tanıya yardımcı olarak ve ayırıcı tanıda kullanılırlar. Uygun ilaç tedavisinin verilebilmesi için astımın doğru şekilde tanımlanması gerekmektedir (1).

### **2.5.1. Öykü**

Klinik astım tanısı aralarda asemptomatik dönemlerin bulunduğu ataklarla seyreden nefes darlığı, hışıltılı solunum, geceleri uykudan uyandıran persistan öksürük

ve göğüste sıkışma hissi gibi semptomlar yardımıyla konular. Allerjene maruz kaldıktan sonra ataklarla seyreden semptomların ortaya çıkması, bu semptomların mevsimsel değişiklik göstermesi, aile öyküsünde astım ve atopik hastalık bulunması da tanıya yardımcı olur. Astım tanısını kuvvetle düşündüren bu semptom kalıplarının özellikleri, değişkenlik; duman, gazlar, kuvvetli kokular gibi özgül olmayan iritatan maddeler ya da egzersizle tetiklenme; geceleri kötüleşme ve uygun astım tedavisine yanıt vermedir (2).

### **2.5.2. Fizik Muayene**

Astım semptomları hem zaman içinde değişiklik gösterdiğinden hem de epizodlar şeklinde belirebildiğinden fizik inceleme tamamen normal olabilir. Vizing en sık saptanan bulgudur ve hemen her zaman bronş obstrüksiyonuna işaret eder. Ağır astım ataklarında olduğu gibi havayolunun tama yakın daralması, nadiren vizingin eşlik etmediği nefes darlığına neden olabilir. Astım düşünülen hastaların fizik incelemede siyanoz, taşikardi, akciğerlerde hava hapsinin artışı, yardımcı solunum kaslarının kullanımı, interkostal / suprasternal/subkostal çekilmeler, konuşmada güçlük gibi bulgular yönünden dikkatle incelenmeleri gerekir. Genellikle bu bulgulara ataklar sırasında rastlanır. Akciğerlerde hava hapsinin artışına bronş obstrüksiyonuda eşlik ediyorsa nefes alıp-verme büyük efor gerektirir. Bu hastalar çok yakından izlenmeli ve hemen tedaviye başlanmalıdır (1,2)

### **2.5.3. Radyografik Tetkikler**

Astımlı bir hastanın ilk değerlendirmesinde, daha önce herhangi bir nedenle akciğer görüntülemesi yapılmamış ise akciğer grafisi genellikle önerilir. Bunun dışında astımlı hastalarda akut atakta esnasında pnömotoraks veya pnömomediastinum gibi komplikasyon şüphesi dışında akciğer grafisi çekilmesine gerek yoktur. Hafif astımda akciğer grafisi genellikle normaldir. Hastalık ağırlaştıkça veya yaş büyüdükçe hava hapsine bağlı olarak hiperlüksensi, göğüs ön-arka çapında artma, diyafram ve kostalarda düzleşme, damla kalp görünümü görülebilir. Persistan astımlı olgularda peribronşial enflamatuvar değişiklikler ve atelektazi görülebilir (122).

## 2.5.4. Astımda Tanı ve İzleme Testleri

### 2.5.4.1. Solunum fonksiyon testleri

Astım tanısında hikayenin ve fizik incelemenin yeri büyüktür; ancak solunum fonksiyon testleri hekime bronşlarda daralmanın göstergesi olan değişkenliği/variabiliteyi, havayolları aşırı duyarlılığını ve reversibilitiyi somut olarak gösterir ve astım tanısını doğrular veya tanı koydurur. Çocuk ile etkin bir iletişim kurulabilen yaştan itibaren, hastalığın tanısı ve izlemi/kontrolü hakkında önemli bilgiler veren bir testtir. Özellikle havayollarındaki obstrüksiyonu yeterince hissedemeyen “dispne algılaması” düşük hastalarda astım şiddetinin belirlenmesinde çok daha kıymetlidir (1-3). Hastanın değerleri cinsiyet, yaş ve boya göre belirlenmiş normal değerler ile karşılaştırılır. Spirometrik inceleme 4 yaş ve üstü çocuklara önerilmesine rağmen, kişinin solunum eforunu gösterebilmesi ve komutlara kooperasyon gerektirmesi nedeniyle çocukların çoğunda 6 yaşından sonra yapılabilmektedir (1-3).

Spirometrik değerlendirmede ekspiryumun 1.saniyesindeki zorlu ekspiratuvar volüm (FEV1), zorlu ekspiratuvar kapasite (FVC), tepe ekspiratuvar akım (PEF), FVC'nin %25, %50, %75 ve %25 ila %75'i arasındaki zorlu ekspiratuvar akım (FEF25, FEF50, FEF75, FEF25-75) parametreleri ölçülür. Ölçülen değerler aynı yaş ve boydaki sağlıklı kişilerin değerleri ile karşılaştırılır ve yüzde olarak sonuç elde edilir (124).

**Reversibilite** FEV1 veya PEF'deki hızlı düzelmeyi ifade eder. Kısa etkili inhaler  $\beta$ 2-agonist (salbutamol 200-400 mg) alımının hemen sonrasında veya inhaler kortikosteroid gibi etkili astım ilaçları kullanımı ile günler veya haftalar içinde FEV1 veya PEF'deki artışa bakılarak yapılan bir değerlendirmedir.

**Değişkenlik/variabilite** bir gün içinde veya günler, haftalar ya da aylar içindeki değişimi araştırmak amacıyla PEF kayıtlarının tutulması ile araştırılır. Havayollarında değişen oranlarda obstrüksiyon varlığına işaret ettiğinden astım tanısında oldukça değerli bir kriteridir.

#### a. *Spirometre*

Bronkodilatör alımı sonrasında FEV1'de %12 (veya >200ml) ve FEF25-75 değerinde %25'lik artış reversibilitiyi gösterir. Birçok astımlı hastada spirometrede reversibilite gösterilemeyebilir, bu nedenle farklı zamanlarda tekrar ölçümlerle reversibilite varlığı

araştırılmalıdır. Birçok hastalıkta azalmış FEV1 değerleri ölçüldüğünden astıma ait havayolu darlığını göstermede en güvenilir ölçüm FEV1/FVC oranıdır. Bu oran sağlıklı çocuklarda genellikle >0.90, erişkinlerde ise >0.75'dir. Daha düşük olması havayollarında obstrüksiyona işaret eder (124).

#### **b. PEF**

Astımlı hastaların evdeki takip ve tedavilerinde PEF ölçümlerinden yararlanılır. Ancak farklı PEF metre cihazları ile ölçümlerde çok değişken sonuçlar elde edilebildiğinden referans değerlerinin sınırları çok geniştir. Bu nedenle PEF ölçümlerinde en uygun yöntem, hastanın semptomlu dönemlerdeki ölçüm değerlerini gene kendine ait en iyi ölçüm değerleri ile kıyaslamaktır. Hastanın semptomsuz iyi bir döneminde elde edilen ölçümleri kaydedilir ve daha sonra karşılaştırma için "en iyi" ölçüm değerlerinden yararlanılır. PEF genelde günde iki kez ölçülür. Genellikle sabah (herhangi bir ilaç almadan) ve akşam PEF ölçümü yapılması yeterli olur. Çoğunlukla sabahları en düşük, akşam ise en yüksek değerler kaydedilir. Gün içinde PEF değişkenliği hesaplanırken en yüksek, en düşük ve ortalama PEF değerlerinden yararlanılır.

PEF Değişkenliği:  $\frac{\text{En yüksek PEF değeri} - \text{En düşük PEF değeri}}{\text{En yüksek PEF değeri} + \text{En düşük PEF değeri}} \times 100$

$$\frac{1}{2} \times (\text{En yüksek PEF değeri} + \text{En düşük PEF değeri})$$

Klinik uygulamalarda solunum yolları labilitesini gösteren en iyi yöntemin bir hafta boyunca sabah bronkodilatör öncesi yapılan en düşük PEF ölçümünün en yakın zamanda ve en iyi PEF ölçümüne oranlanarak elde edilen PEF indeksi olduğu belirtilmektedir. Bu uygulamada günde tek ölçüm yapıldığı için PEF variabilitesine göre daha kolay bir metoddur. Astım tanısında reversibilitayı göstermede en iyi yöntem spirometre olsa da PEFmetrede bronkodilatör sonrası 60 L/dak (veya bronkodilatör öncesi ölçüme göre %20 artış) veya gün içi variabilitenin/değişkenliğin > %20 olması astım tanısı koydurur (1-3).

#### **2.5.4.2. Bronş Provokasyon Testleri (BPT)**

Havayolu aşırı duyarlılığını göstermek için uygulanan testlerde metakolin, histamin, mannitol ve ezgersiz gibi nonspesifik veya allerjen gibi spesifik uyarılar kullanılır (1,2). Bu test tanı koymak amacıyla rutin olarak yapılmamalıdır. BPT'nin astım için duyarlılığı yüksek ancak özgüllüğü düşüktür. Klinik pratikte daha çok, astım



benzeri semptom tanımlamasına karşın solunum fonksiyon testleri normal olan hastalarda havayolu aşırı duyarlılığını göstermek için kullanılırlar. Havayolu duyarlılığını ölçen testler astım semptomlarından sorumlu olabilecek tetikleyicilerle karşılaşıldığında havayollarının verdiği bronkospazm yanıtını ölçer. Bu testlerin sonucunda genellikle FEV1’de %20 düşmeye neden olan metakolin veya başka bir uyarının dozu (PD20) veya konsantrasyonu (PC20) belirlenmiş olur ve bu değer ne kadar düşükse, havayolu aşırı duyarlılığı o kadar fazla anlamı taşır.

### **2.5.4.3. Allerjen Duyarlılığının Gösterilmesi**

Th2 ağırlıklı allerjik inflamasyona neden olan allerjen spesifik IgE yanıtını, deri prik testleri veya serumda IgE ölçümleri ile araştırmak gerekir. Çocukluk çağında görülen astımın yaklaşık %70-80’i allerjen spesifik IgE beraberliğinde gelişen allerjik/atopik astımdır.

#### ***a. In vivo testler***

##### ***1. Deri prik testleri***

Kolay uygulanmaları, ucuz olmaları ve yüksek sensitivitesi/duyarlılığı nedeniyle serum spesifik IgE’ye kıyasla daha üstündürler. Yaygın yanlış inanışın aksine, deri prik testleri birkaç aylık bebeklerde dahi uygun teknikle yapıldığında doğru sonuçlar verir.

Günümüzde yaygın olarak kullanılan deri testleri peruktan test şeklinde ve intradermal olmak üzere iki şekilde yapılır. Perkutan testler içinde en sık prik testi yöntemi kullanılır. Ön kolun volar yüzüne veya sırtta allerjen eksterleri damlatılır, bir lanset ile bu damlanın içinden yüzeyle dar açı yapacak şekilde epidermise ulaşılır, lansetin ucu epidermisin bir kısmını kaldıracak şekilde yukarı doğru kanatmadan hafifçe çekilir. Ayrıca antijenle hazır yüklü cihazlarla da test yapılabilir. Deri testi yapılacak yer olarak ön kolun tercih edilmesi olası bir sistemik reaksiyonda test yapılan bölgenin üzerine turnikenin daha kolay bağlanabilmesidir. Prik testin negatif olduğu ancak öykünün pozitif olduğu durumlarda İntradermal testlerin yapılması önerilmektedir. Prik testlerin en önemli dezavantajları yalancı negatif sonuç elde etme oranının daha yüksek oluşu iken intradermal testlerde ise yalancı pozitiflik oranı prik teste göre daha yüksektir. Kısacası prik test daha spesifik ama daha az sensitiftir. İntradermal test ise prik teste göre daha sensitivdir ama yapılması daha zordur. Test panelinde kullanılacak allerjenler öncelikle hastanın öyküsüne

göre seçilmelidir. Solunum sisteminin allerjik hastalıkları sözkonusu olduğunda, inhalan allerjenlerden oluşan standart bir panel kullanılması ve panele eklenecek allerjenlere, öyküye göre karar verilmesi önerilmektedir.

Her deri testinde mutlaka negatif ve pozitif kontrol de kullanılmalıdır. Negatif kontrol için fosfat ile tamponlanmış serum fizyolojik, pozitif kontrol için histamin kullanılır. Test yapılmadan önce hastanın cildi alkolle temizlenir, kuruması için biraz beklenir. Allerjen ekstraları birbirlerinden en az 2-5 cm ara ile deri yüzeyine damlatılır. Deri testi sonuçları testlerin ardından 15-20 dakika sonra değerlendirilir. Ödem ve eritemin ortalama çapları değerlendirilir (125).

**Tablo 2.** Deri prik testi sonuçlarının değerlendirilmesinde Patterson skalası (126).

Derecelendirme	Ödem ve eritem
0 (-)	Negatif reaksiyon
1+	21mm'den büyük olmayan ancak negatif kontrolden büyük eritem
2+	21mm'den ve negatif kontrolden büyük eritem
3+	Eritem ve psödopodsuz endurasyon
4+	Eritemle beraber psödopodlu endurasyon

## ***b. İn vitro Testler***

### ***1. Serum spesifik IgE ölçümleri***

Hayatın ilk bir ile üç yılı arasında gıda allerjenleri ve aeroallerjenlere karşı antijene özgü IgE yapımı görülür. Serumdaki antijene özgü IgE düzeyleri in vitro olarak radioallergosorbent testi (RAST) veya kantitatif enzim aracılı immunosorbent assay ile ölçülebilir. Maliyetinin yüksek olması ve düşük sensitivite nedeniyle deri prik testlerinden sonra düşünülmelidir. Ancak, sistemik reaksiyona neden olma riski taşımaması, ağır egzeması olan hastalara uygulanabilmesi, kantitatif değer vermesi ve test esnasında antihistaminik ve kortikosteroid gibi ilaçların kesilmesine gerek duyulmaması nedeni ile tercih edilebilir (Ayrıca serum total IgE değerlerinin allerjik hastalıklarda tanı koydurucu bir test olmadığı akılda tutmak gerekir (1,2).

### **2.5.5. Solunum yolu inflamasyonunu gösteren noninvaziv testler ve belirteçler**

Astımda inflamasyon akciğerlerde özellikle de bronşlarda kendini gösterir. Hastalardan gerek kendiliğinden gerekse hipertonic tuzlu su ile toplanan balgamda eozinofilik ve nötrofilik inflamasyon araştırılabilir. Ayrıca astımlı hastalardan toplanan ekshale havada nitrik oksid (FeNO) ve karbonmonoksid (FeCO) düzeyleri artmış olarak görülür (127-129).

#### ***Yoğunlaştırılmış nefes havası (Exhaled breath condensate-EBC)***

EBC dışarıya verilen nefes havasının soğutulup yoğunlaştırılarak toplanmasıdır. EBC' de ekshale nitrik oksid, karbonmonoksid ve allerjik inflamasyonda rol alan sitokin, lökotrien, kemokinlerin ölçümü yapılabilmektedir. EBC toplanması havayolu fonksiyonu veya inflamasyonunu değiştirmez ve küçük çocuklarda bile kolayca uygulanabilir (130). EBC' de inspire edilen hava solunum sisteminde nemlendirilir ve ısıtılır ve ekshale edilir. Tidal solunun sırasında verilen nefes havasının her mililitresinde ortalama 0.3 µm çapında 0,1-4 damla su buharı bulunur. Bu dışarı verilen sıcak hava soğuk yoğuşmalı bir cihaza ileildiğinde damlacıklar halinde çöküntüye uğrar. Bu çökeltinin aerolize havayolu yüzey sıvısının da küçük katkısıyla esas olarak % 99 dan fazlasını su buharını oluşturmaktadır Bu damlaların analiziyle akciğerlerdeki fizyolojik ve inflamatuvar durumlar non-invaziv olarak gösterilebilir (131, 132). EBC dışarıya verilen nefes havasının soğutulması veya dondurulması ile toplanır. EBC ile yapılan ilk çalışmalar Rusya'da 1980' lerde EBC' de bulunan pulmoner sürfaktanı tanımlayan çalışmalardır. Günümüzde EBC' de çeşitli inflamatuvar mediatörler, oksidanlar ve iyonlar tanımlanmıştır. EBC kimyasındaki ve dışarıya verilen belirteçlerdeki anomaliler inflamasyon ve oksidatif stres tarafından oluşturulan hava yolu sınırlayıcı sıvısının intrensek anomalilerini yansıtır ve akciğer hastalıklarının kıymetli bir izlem aracı olabilir. 1-3 ml EBC elde edilmesi için 10-15 dakikalık nefes alıp verme gereklidir ve ağır hava yolu obstrüksiyonu olan hastalar ve çocuklar tarafından kolayca tolere edilebilir (133). EBC hacmi hem solunum tidal volümü hem de dakika volümü ile anlamlı olarak koreledir. Güncel rehberler herhengi bir rezistans olmadan tidal solunum ile EBC toplanmasını önermektedirler (131).

Astımın takibi klinik semptomlar ve solunum fonksiyon testi ile yapılır. Ancak havayolu inflamasyonunu göstermede kullanılan yöntemlerden çok azı noninvazivdir

(130). Ayrıca plazma ve idrarda ölçülen inflamatuvar mediatörler akciğerden çok sistemik inflamasyonu yansıtır. Oysa ki inflamatuvar mediatörlerin EBC’de ölçülmesi tamamen noninvazivdir ve solunum yollarındaki inflamasyonu yansıtır. EBC’deki inflamatuvar belirteç düzeyi tayinlerinin atopik çocuklarda üst ve alt havayollarındaki inflamasyonu, hastalık şiddetini ve yeni tedavilerin etkinliğini değerlendirmede ve izlemede kullanışlı invaziv olmayan bir yöntem olduğunu belirten çalışmalar mevcuttur (134).

### **2.5.6. Diğer tanısal tetkikler**

Total IgE yüksekliği ve eozinofili varlığı astımı desteklemekle birlikte astım açısından tanı koydurucu değildir. Diğer taraftan, bu tetkiklerin normal olması da astımı ekarte ettirmez (129).

## **2.6. Astım Sınıflandırması**

Önceden astım sınıflandırması şiddeti temel alınarak yapılmış ve semptomların sıklığı, bronkospazmın derecesi ve solunum fonksiyon testlerine göre intermitan, hafif persistan, orta persistan ve ağır persistan olarak sınıflandırılmıştır. Hasta ilk kez değerlendirildiğinde tedavi planlanmasında astım şiddeti yol göstericidir. Ancak unutulmamalıdır ki uygun tedavi alan bir astımlı hastada semptom sıklıkları çok azalmış veya tamamen kaybolmuş olabilir. Astım şiddet derecesi hastalarda değişmez sabit bir bulgu değildir. Şiddet aynı hastada farklı zamanlarda farklı nedenlere bağlı olarak değişkenlikler gösterebilir. Bu sebeple astım şiddeti hem altta yatan hastalığın şiddetini hem de hastanın tedaviye verdiği yanıtı kapsamalıdır (Tablo 3) (2).

Tablo 3’de kullanılan sınıflama kortikosteroid tedavisi almayan hastalarda veya bir çalışmaya dahil edilecek olan hastaların astım şiddetini belirlemede tercih edilmelidir. Bu nedenle astım kontrolüne dayalı sınıflama geliştirilmiştir. Astım kontrolüne göre sınıflandırılmasında ise kontrol altında, kısmen kontrol altında ve kontrolsüz astım olarak üç grupta değerlendirilir.

### **2.6.1 Astımın Kontrol Düzeyine Göre Sınıflanması**

Astım kontrolü alevlenmelerin önlenmesi ve iyileşme anlamına gelir. İdeal astım kontrolünde semptomlar ve akciğerdeki inflamasyon değerlendirilmelidir.

Ancak solunum yollarındaki inflamasyonun belirlenmesinde kullanılan balgamda eozinofil, ekzhale nitrik oksid ve endobronşiyal biyopsi gibi yöntemler hem zorlukları, hem de maliyetleri nedeniyle pratikte henüz yer almamaktadırlar.

**Tablo 3.** Astımın şiddetine göre sınıflandırılması.

	<b>İntermitan</b>	<b>Hafif persistan</b>	<b>Orta persistan</b>	<b>Ağır persistan</b>
<b>Semptomlar</b>	Haftada birden az	Haftada birden fazla günde birden az	Hergün	Hergün
<b>Alevlenmeler</b>	Hafif, kısa	Günlük aktivite ve uykuyu etkileyebilir	Günlük aktivite ve uykuyu etkileyebilir.	Sık
<b>Gece semptomları</b>	Ayda ikiden az	Ayda ikiden fazla	Haftada birden fazla	Sık
<b>Solunum fonksiyon testleri</b>	FEV1 veya PEF $\geq$ % 80	FEV1 veya PEF $\geq$ 80%	Günlük inhale kısa etkili $\beta$ 2 agonist kullanımı	Fiziksel aktivitelere kısıtlanma
	PEF veya FEV1 değişkenliği $<$ %20	PEF veya FEV1 değişkenliği $<$ %20 – 30	FEV1 veya PEF % 60-80 PEF veya FEV1 değişkenliği $>$ %30	FEV1 veya PEF $\leq$ %60 PEF veya FEV1 değişkenliği $>$ %30

Bu nedenlerle astım kontrol şemasında hedeflenen noktalar hastanın klinik bulgularının ve solunum fonksiyon testlerinin izlemidir (Tablo 4). Astım hastalarının izleminde hazırlanmış olan astım kontrol testlerinden yararlanılabilir. Bu soru formları araştırma yapmak amaçlı değil astım kontrolünün ne derecede başarılı ya da başarısız olduğunu gösteren objektif araçlardır (2).

## 2.7. Çocuklarda Astım İlaçları ve Tedavisi

Çocukluk çağı astımında tedavinin amacı; semptomların kontrolü ve kontrolün devamının sağlanması, atakların önlenmesi, yaşam kalitesinin bozulmasının önlenmesidir.

### 2.7.1. Astım İlaçları

İnhaler tedaviler tüm yaşlardaki çocuklarda astım tedavisinin temel taşıdır. Tüm çocuklara inhaler tedaviyi etkin bir şekilde uygulamaları öğretilir (1-3).

**Tablo 4.** Astımın kontrol düzeyleri

Özellikler	Kontrol altında (Aşağıdakilerin tümü olmalı)	Kısmen kontrol altında (Bulgulardan birinin olması yeterli)	Kontrol altında değil
Gündüz semptomları	≤2/hafta	>2/hafta	Kısmen kontrol altındaki bulgulardan üç veya daha fazlasının bulunması
Aktivitelerin kısıtlanması	Yok	Var	
Gece semptomları	Yok	Var	
Kurtarıcı ilaç kullanımı	Yok	>2/hafta	
Solunum Fonksiyon Testleri	Normal	Beklenen veya kişisel değerinin <%80'i	
Alevlenme	Yok	Yılda bir veya fazla	Herhangi bir haftada bir kez

#### 2.7.1.1. Kontrol edici ilaçlar

Çocuklarda kullanılan kontrol edici ilaçlar, inhaler ve sistemik steroidler, lökotrien modifiye edici ilaçlar, uzun etkili inhaler  $\beta$ 2-agonistler, teofilin, kromonlar ve yavaş salımlı oral  $\beta$ 2-agonistlerdir.

##### *a. İnhaler steroidler*

İnhaler steroidler en etkili kontrol sağlayıcı ilaçlardır, bu nedenle her yaştaki astımlıda ilk tercih edilmesi önerilen tedavidir. İnhaler steroid tedavisi, hastalarda astım semptomlarını kontrol eder, atak sıklığını ve acil başvurularını azaltır, yaşam kalitesini, solunum fonksiyon testlerini, bronş aşırıduyarlılığını düzeltir. Semptom kontrolü ve solunum fonksiyonlarındaki düzelme 1-2 haftada kısa sürede görülürken, havayolu aşırıduyarlılığının azaltılabilmesi için aylar gerekebilir. Tedavi kesildiğinde haftalar, aylar içinde astım kontrolü bozulabilir. Hastaların çoğu düşük dozlarla kontrol altına alınabilmektedir. Bazı hastalar astım kontrolü ve etkin koruma için 400 mcg gibi daha yüksek dozlar gerekir. Hastaların çok azında yüksek doz inhaler steroide gereksinim

duyulur. Beş yaş altındaki çocuklardaki klinik yanıt daha büyük çocuklardakine benzerdir, ancak doz-yanıt ilişkisi iyi çalışılmamıştır. İnhaler steroidlere yanıt, seçilen inhalere ve çocuğun inhaleri doğru kullanmasına bağlı olarak değişmektedir. Viral enfeksiyonlarla tetiklenen wheezingi olan çocuklarda atak döneminde verilen sistemik veya inhaler steroidlerin klinik yararlılığı konusunda çelişkili veriler vardır. Geçici erken wheezingin önlenmesinde düşük doz inhaler steroid kullanımını destekleyecek bir kanıt yoktur (2).

#### **b. *Lökotrien modifiye edici ilaçlar***

2008 yılı itibarıyla ülkemizde sadece lökotrien reseptör antagonistleri mevcuttur. Lökotrien reseptör antagonistleri beş yaş üstündeki çocuklarda her ağırlık derecesinde klinik yarar sağlamaktadır, ancak bu yarar genel olarak düşük doz inhaler steroidlerden daha azdır. Lökotrien reseptör antagonistleri, saatler öncesinde alındığında egzersize bağlı bronkokonstrüksiyona karşı kısmi koruma sağlamaktadır. Düşük doz inhaler steroidlerle astımı kontrol edilemeyen çocuklarda lökotrien reseptör antagonistlerinin tedaviye eklenmesi klinik düzelmeyi ve atakların azalmasını sağlamaktadır. Aralıklı astımı olan 2-5 yaş arasındaki çocuklarda lökotrien reseptör antagonistleri viral enfeksiyonla tetiklenen astım alevlenmelerini hafif-orta düzeyde azaltabilmektedir (1,2).

#### **c. *Uzun etkili inhaler $\beta$ 2-agonistler***

Uzun etkili inhaler  $\beta$ 2-agonistler, beş yaş üstündeki astımlı çocuklarda düşük doz inhaler steroidle kontrol sağlanamadığında ek tedavide ilk seçenek olarak kullanılması önerilmektedir. Tedavide tek başına kullanılmamalıdır. Bir çok çalışmada, solunum fonksiyon testlerinde belirgin düzelmeye sağladıkları gösterilmiştir . Ancak semptomlar ve rahatlatıcı ilaç ihtiyacı gibi diğer parametreler üzerindeki etkileri o kadar net değildir. Uzun etkili  $\beta$ 2-agonistin tedaviye eklendiği hastalarda atak sıklığının azalmadığı bildirilmiştir. Tek doz uzun etkili  $\beta$ 2-agonist inhalasyonu egzersizle indüklenen bronkokonstrüksiyonun birkaç saat engellemektedir. Günlük tedaviye geçildiğinde koruma süresi azalmakta, fakat yine de kısa etkili  $\beta$ 2-agonistlerden daha uzun olmaktadır. Uzun etkili  $\beta$ 2-agonistler, beş yaşın üstündeki çocuklarda iyi bir şekilde tolere edilir. Uzun etkili  $\beta$ 2-agonist kullanımının mortalite ve ağır astım ataklarında artışa neden olduğu bildirilmişse de bunun daha çok inhaler steroidlerle birlikte kullanılmamasından kaynaklandığı öne sürülmüştür. Bu nedenle uzun dönemde kullanılacaklarsa mutlaka inhaler steroid ile birlikte kullanılmalıdırlar (1,2).

#### **d. Teofilin**

Beş yaşından büyük çocuklarda teofilinin tek başına ve inhaler steroidlere ek olarak etkili olduğu gösterilmiştir. Semptomların kontrolü ve solunum fonksiyon testlerinin düzelmesinde plaseboda daha etkilidir (1,2).

#### **e. Diğer kontrol sağlayıcı ilaçlar**

Yavaş salımlı oral  $\beta_2$ -agonistlerin kullanımı gece semptomlarını azaltmıştır. Ancak kardiyovasküler stimülasyon, anksiyete ve iskelet kası tremoru gibi potansiyel yan etkiler nedeniyle kullanımları önerilmez, çocuklarda güvenliğine dair yeterli veri yoktur.

Sodyum kromoglikat ve nedokromilin kullanımına ilişkin az sayıda çalışma vardır ve sonuçlar genellikle zayıf etkili olduğunu göstermektedir, günde 3-4 sefer kullanım gerekliliği ve ülkemizde bulunmaması kullanımını sınırlamaktadır. Oral steroidler ise uzun dönem kullanımındaki yan etkilerden dolayı sadece ağır hastaların tedavisinde ve şiddetli akut alevlenmeler (virüslere ya da diğer nedenlere bağlı) ile sınırlandırılmalıdır.

### **2.7.1.2. Rahatlatıcı ilaçlar**

#### **a. Kısa etkili inhaler $\beta_2$ -agonistler**

Kısa etkili inhaler  $\beta_2$ -agonistler en etkili bronkodilatörlerdir ve bu nedenle tüm yaş gruplarındaki çocuklar için akut astımın tedavisinde tercih edilen tedavi yöntemidir. İnhaler yolla alındığında oral veya intravenöz alıma göre daha düşük dozlarda daha hızlı şekilde etki eder. Ayrıca inhaler yolla alındığında egzersize bağlı bronkokonstriksiyona karşı 0.5-2 saat korurken, sistemik yolla bu etki görülmez. Oral tedavi sadece inhaler tedavi alamayan küçük çocuklarda denenebilir. Yan etkileri: İskelet kasında tremor, baş ağrısı, taşikardi, hipokalemi ve ajitasyon yüksek doz  $\beta_2$ -agonist kullanımında karşılaşılabilecek şikayetlerdir (1,2).

#### **b. Uzun etkili $\beta_2$ -agonistler**

Etkisi hızlı başladığı için formoterolün erişkinlerde rahatlatıcı olarak kullanılabilmesi bildirilmişse de çocuklarda halen etkinlik ve güvenlik açısından yeterli veri bulunmamaktadır. Antikolinergikler: İnhaler antikolinergikler çocuk astımında uzun süreli tedavide önerilmemektedir (1).



### *c. Antikolinerjikler*

İnhaler antikolinerjikler çocuk astımında uzun süreli tedavide önerilmemektedir.

### *d. Sistemik steroidler*

Orta ve ağır astım ataklarında kısa süreli kullanımları atağın hızlı düzelmesini sağlarken relapsları da engellemektedir.

### **2.7.3. Allerjene özgü immunoterapi**

Spesifik allerjen immünoterapi (ASİ) ancak IgE aracılıklı olarak gelişmiş, atopinin ispatlandığı ve klinik olarak anlamlı bulguları olan allerjik hastalıklarda endikasyona sahiptir. Başlıca ASİ endikasyonları allerjik astım, allerjik rinokonjoktivit (ARK) ve venom allerjisidir. Herhangi bir allerjene duyarlılık saptansa da ASİ kullanılamayabilir. Örneğin ot ve ağaç polenleri, ev tozu akarı (mite) ve venomlar etkinliği kabul edilmiş ve ASİ protokollerine girmiş başlıca allerjenlerdir. ASİ endikasyonu koyabilmek için bu günkü yöntemler açısından en önemli kriterlerden birisi yaştır. Beş yaş altı ve 60 yaş üstünde ASİ endike değildir. Allerjen ile temasın kaçınılabilir olmaması gereklidir. Ancak bu şekilde bir çevresel allerjen zaten yoktur.

Klinik olarak akut ve tedaviye dirençli kronik bulguları olmamalıdır. En önemli olarak astımda klinik ya da subklinik semptomların olmadığına ve solunum fonksiyon testlerinin normal olduğuna dikkat edilmelidir. Astımın ağırlığı ASİ endikasyonu açısından endikasyon kriteri veya kontrendikasyon olarak kabul edilmemekle birlikte ağır astımlı olgularda sonuçlarının çok da iyi olmadığı bildirilmektedir. Ancak astımda ARK komponenti varsa klinik deneyimler allerjik rinitin yeterli kontrolünün astım izlemini iyileştirdiğini göstermiştir.

Çoklu allerjen duyarlılığı olan hastalarda ASİ tümüyle yapılırsa etkin değildir. Bu nedenle endikasyon koyarken klinikle en yakın ilgili ve mümkün olan en az allerjen seçimine dikkat edilmelidir. Hastanın ilaç tedavisini devam ettirmek istememesi, sosyoekonomik faktörler, hastanın yaşam kalitesi gibi faktörler de immunoterapi endikasyonu koymada göz önüne alınmalıdır (135).

## 2.8. Astım Tedavisi, Kontrolü ve Korunma

Yenilenen astım rehberlerinde hasta takibinin hastalığın kontrol düzeyine göre yapılması önerilmektedir. Astım kontrolü, hastalığın klinik belirtilerinin kontrolü demektir. Son önerilen şema, kontrol altında, kısmen kontrolde ve kontrol edilemeyen astım şeklindedir. Tedaviyle hedeflenen kontrol, hastaların uzun dönemde yan etki olmaksızın normal yaşamlarını sürdürebilmesidir.

Astımlı hastada kontrolü sağlamak ve sürdürmek için çeşitli bileşenler vardır..

1. Hasta / Anne-baba / Bakıcı / Doktor işbirliğinin sağlanması
2. Risk faktörlerine maruziyeti saptamak ve azaltmak
3. Astımın değerlendirilmesi, tedavisi ve izlemi

Daha önce hiç tedavi almamış hastada ilk kez başlanacak olan tedavi astımın ağırlığına göre ayarlanır. Beş yaş altındaki çocuklarda tedaviye başlama kriterleri de gözönünde tutulmalıdır.

I- Yılda üçten fazla wheezing epizodu geçiren çocuklarda en az bir majör risk faktörü

- Parental astım öyküsü
- Atopik Dermatit
- Aeroallerjen duyarlılığı veya en az iki minör risk faktörü
- Eozinofili
- Besin allerjisi
- Soğuk algınlığı nedenlerle tetiklenen wheezing

II- Sık tedavi gerektiren çocuk (Son bir ayda > 2gün/hafta)

III- Son 6 ayda > sistemik steroid gerektiren atak

IV- Önceden kötüleşme görüldüğü mevsim boyunca

Astımlı olgularda tedavide kullanılan basamak sistemi şekil 6' da verilmiştir. Daha önce tedavi almamış olgular astım ağırlığı açısından değerlendirilmeli, hasta intermittan ise başlangıç tedavi 1. basamaktan, hafif persistan ise 2. basamaktan, orta persistan ise 3. basamaktan, şiddetli persistan ise 4-5. basamaktan tedavi başlanmalıdır.

Yeni tedavi başlanan astımlılar 4 haftada bir değerlendirilerek tedavinin yeterli astım kontrolü sağlayıp sağlamadığına bakılmalı, kontrol sağlanana kadar tedavi her vizitte basamak yükseltılarak tekrar düzenlenmelidir.

Kontrol sağlanmış ise hasta, kontrolün sağlandığı basamakta en az 3 ay izlenir ve sonra semptomları yok ise tedavi basamağı azaltılabilir. Astım tedavisinde amaç kontrolün sağlanabildiğı en düşük tedavi basamağı ve en düşük ilaç dozuna ulaşmaktır (2).

**Basamak 1:** Hafif intermittan astım, kontrol altında olmasına rağmen egzersiz ile tetiklenen astım ve haftada iki veya daha az gündüz semptomu olan hastalar için uzun dönem kontrol edici tedavi kullanımı önerilmez. Bu hastalara sadece gerektiğinde kullanılmak üzere kısa etkili bronkodilatör verilir.

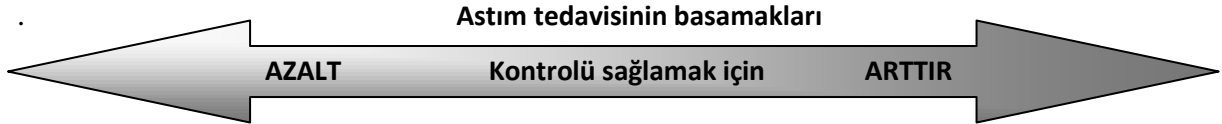
**Basamak 2:** Persistan astım semptomları olan ve daha önce ilaç kullanım öyküsü bulunmayan hastalara genellikle ikinci basamak tedavisi başlanır. Bu basamakta uzun dönem kontrol edici ilaç olarak düşük doz inhale kortikosteroid önerilir.

**Basamak 3:** Kontrol sağlanamamış persistan astımı olan hastalara doğrudan üçüncü basamak tedavisi verilir. Bu basamakta beş yaş altındaki hastalara uzun etkili  $\beta_2$  agonist kullanımı uygun değildir.

**Basamak 4:** Bu basamakta kontrol edici gruptan iki veya daha fazla ilaç kullanılmaktadır. Bu basamakta yüksek doz inhale steroid tedavisine çıkılması orta doza göre çok az fayda getirirken, kortikosteroide bağlı yan etkiler çok artmaktadır. Bu basamaktaki hastalar konu ile ilgili uzmanlar tarafından takip edilmelidir.

**Basamak 5:** Bu basamakta kurtarıcı ilaç ve kontrol edici gruptan ilaçlar beraber kullanılmaktadır. Oral kortikosteroidler ve Anti-IgE sečilmiř hastalarda tedaviye eklenir. Geliřebilecek yan etkiler ağısından hastalar yakından takip edilmelidir.

Kontrol Düzeyi	Tedavi
Kontrol altında	Kontrolü sağlayan en düşük basamağa geçilerek kontrolü sürdür*
Kısmen kontrol altında	Kontrolü sağlamak için basamak artırmayı düşün*
Kontrol altında değil	Kontrol sağlanıncaya kadar basamak arttır*
Alevlenme	Alevlenme tedavisi uygulanır



Basamak	Basamak	3.basamak	4. basamak	5. Basamak**
Hasta eğitimi Çevresel kontrol				
Gerektiğinde hızlı etkili $\beta_2$ -agonist				
Kontrol edici tedaviye gerek yok	<b>İlk seçenek kontrol edici tedavi</b>			
	Düşük doz İKS*	Düşük doz İKS + uzun etkili $\beta_2$ -agonist	Orta – yüksek doz İKS + uzun etkili $\beta_2$ -agonist	4. basamak tedavisine
	<b>Alternatif tedavi</b>	<b>Alternatif tedavi</b>	<b>Yetersiz kalırda eklenebilecekler</b>	<b>eklenebilecekler</b>
	Lökotrien Reseptör antagonisti	Orta doz İKS	Lökotrien Reseptör antagonisti	Oral ortkikosteroid (en düşük doz)
		<b>veya</b>	<b>ve/veya</b>	<b>ve/veya</b>
		Düşük doz İKS + Lökotrien Reseptör antagonisti	Yavaş salımlı oral teofilin	Anti Ig-E Tedavisi***
		<b>veya</b>		
	Düşük doz İKS + yavaş salımlı oral teofilin			

### Şekilb6. Kontrole dayalı tedavi yaklaşımı

\*İKS: İnhalasyon kortikosteroidler

\*\*Üçüncü basamak sağlık kuruluşuna göndermeyi düşün

\*\*\*Sadece tümkontrol edici tedavilere rağmen astımı kontrol altına alınamayan atopik olduğu kanıtlanmış olgulara uzman merkezlere uygulanması önerilmektedir.

### 3.GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Çalışma Gurubu

Bu çalışma Celal Bayar Üniversitesi Çocuk İmmünolojisi ve Allerjik Hastalıkları Bilim Dalı, Manisa, Türkiye’ de yapılmıştır. Ocak 2012 - Mayıs 2012 tarihleri arasında Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk İmmünolojisi ve Allerjik Hastalıkları Polikliniği’ne başvuran 39 atopik 39 nonatopik astım tanısı alan toplam 78 hasta çalışmaya alındı.

Astım tanısı, Global initiative for Asthma (GINA) uzlaşı raporunun kriterlerine göre belirlendi (1): klinik olarak nefes darlığı, hışıltılı solunum, öksürük ve göğüste sıkışma gibi semptomların olması ve bulguların kısa etkili bronkodilatatör uygulaması sonrasında reversibilite göstermesi olarak tanımlandı. Solunum fonksiyon testi yapabilen çocuklarda reversibilite klinik düzelme ile birlikte FEV1 de %12 düzelme ile karakterize olarak tanımlanır.

Çalışmaya alınma kriterleri:

1. 5-16 yaşları arasında olmak
2. Poliklinik başvurusunda astım tanısı almak
3. Çalışmaya katılmayı kabul ederek bilgilendirilmiş onam formunu imzalamak
4. Yoğunlaştırılmış nefes hava yöntemine adapte olarak uygulayabilmek

Çalışmadan dışlanma kriterleri:

1. Astım ya da diğer allerjik hastalıklar dışında solunum yoluna ait kistik fibrozis, primer siliyer diskinezi gibi başka bir hastalık varlığı

2. Astım nedeni ile son 3 ay içinde sistemik ya da inhale anti-inflamatuar tedavi almış olmak
3. Çalışmaya katılmayı kabul etmemek
4. Son bir ayda solunum yolu enfeksiyon öyküsü bulunması
5. Son bir ayda astım atağı geçirmek

### ***Atopik Astım Hasta Gurubu***

Allerjen deri prik testinde proteaz özelliği olan aeroallerjenlerden en az bir tanesi pozitif olan (DP, DF, Mould mix ve olea) hastalar atopik astım gurubunu oluşturdu.

### ***Nonatopik Astım Hasta Gurubu***

Aeroallerjenlerle yapılan deri prik testi negatif olarak saptanan olgular nonatopik astım gurubunu oluşturdu. Nonatopik gruptaki hastalar atopik guruptaki hastaların yaşlarıyla bire bir eşleşecek şekilde çalışmaya dahil edildi.

## **3.2. Çalışma Dizayını ve Etik kurul**

Bu çalışma bir olgu kontrol çalışmasıdır ve Celal Bayar Üniversitesi Etik Kurulu tarafından değerlendirilmiş ve onaylanmıştır (Karar no: 03-2011/72). Helsinki Deklarasyonu uyarınca her hastaya ve ebeveynine çalışma ile ilgili aydınlatılmış onam formu imzalatıldı.

## **3.3. Data Toplama**

Çalışmaya alınan hastaların yaşı, cinsiyeti, son bir yıldaki astım atak sayısı, astım atağı nedeniyle hastaneye yatış sayısı, son bir yıl içinde kullanmış oldukları İKS dozu, bronkodilatatör ve sistemik kortikosterid ilaç kullandıkları gün sayısı yüze görüşülerek değerlendirildi.

Çocuklar çalışmaya alındıkları gün, tümünden IgE için serum örneği ve eozinofil sayısı için hemogram örneklerini alındı ve aynı gün ölçümleri yapıldı. Benzer şekilde aynı gün IL-5, IL-8, MMP-9 ve e-cadherin ölçümleri için yoğunlaştırılmış nefes havası örneği elde edildi. Toplanan yoğunlaştırılmış nefes havası örneği çalışmanın sonunda değerlendirilmek üzere  $-80^{\circ}\text{C}$  de muhafaza edildi. Çalışmaya dahil edilen tüm çocuklara yine çalışma başlangıcında spirometri ile SFT uygulandı.

### **3.3.1. Total eozinofil Ölçümü**

Hastalardan standart olarak hazırlanmış EDTA'lı tüpe 2 cc kan alınarak, hematoloji laboratuvarında tam kan sayım cihazında (Beckman Coulter LH 780 Analyzer, California, U.S.A) tam kan sayımı rutin bir değerlendirme olarak yapıldı.

### **3.3.2. Total Ig E ölçümü**

Hastalardan total Ig E ölçümü için standart biyokimya tüplerine 2 cc venöz kan örneği alındı. Alınan örnekler seroloji laboratuvarında Chemiluminescence immünometrik yöntemi ile (Immulight 2000, NJ, USA) rutin değerlendirme olarak çalışıldı.

### **3.3.3. Solunum Fonksiyon Testi**

Spirometrik değerlendirmeler Spirobank G (Roma, İTALYA) solunum fonksiyon testi cihazı ile yapıldı. SFT cihazıyla ölçümler, oturur pozisyonda, oda ısısında, burun mandalla kapatılarak yapıldı. Her ölçüm üç kez tekrarlanılarak en iyi değerler seçildi. Her ölçüm üç kez tekrarlanarak en iyi değerler seçildi (136). Spirometrik değerlendirmelerden 1. saniye zorlu ekspiryum volümü (FEV1), zorlu vital kapasite (FVC) ekspiryum zirve akımı (PEF) ve 1. saniye zorlu ekspiryum volümü/zorlu vital kapasite (FEV1/FVC) değerleri çalışmada kullanıldı.

### **3.3.4. Astım Şiddetinin Değerlendirilmesi**

Uluslararası Astım Tanı ve Tedavi Rehberi'nde astım şiddeti klinik özellikler, solunum fonksiyonları, hastanın almakta olduğu tedavi göz önünde bulundurularak intermitan, hafif persistan, orta persistan ve ağır persistan olarak dört kategoriye ayrılmıştır (1). Çalışmaya dahil edilen hastaların gündüz ve gece semptomlarına, alevlenme sayılarına, FEV1 ve PEF değerlerine göre muayene eden doktor tarafından astım şiddeti belirlendi.

### **3.3.5. Allerjen Deri Prik Testi**

Allerji varlığı, en sık rastlanan aeroallerjene karşı deri prik testi uygulanarak saptandı (Allergpharma©, Reinberg Germany). Deri prik testi EAACI önerilerine göre uygulandı (137). Deri testlerini etkilediği bilinen kısa etkili antihistaminikler test

yapılmadan en az beş gün önce, uzun etkili antihistaminikler 10 gün önce kesildi. Deri testleri ilgili teknisyen tarafından uygulandı. Allerji testi seti 8 farklı , pozitif ve negatif kontrolden oluşturuldu. Allerjen panelini Dermatophagoides pteronyssinus, Dermatophagoides farinae, Mould mix I (Alternaria tenius, Botrytis cinerea, Cladosporium herbarum, Curvularia lunata, Fusarium moniliforme, helminthosporium halodes), köpek epiteli, yabancı ot karışımı ( Artemisia vulgaris, Urtica dioica, Toraxacum vulgare, Plantago Lanceolata), i ot karışımı (Holcus lanatus, Dactylis glomerata, Lolium perenne, Pheleum pratense, Poa pratensis, Festuca pratensis)), Plantago Lanceolata, olea europeae (zeytin), (allergofarma) oluşturdu.

Pozitif kontrol olarak, 10 mg/ml'lik distile sudaki histamin solüsyonu ve negatif kontrol olarak da gliserol-buffered solusyonlu serum fizyolojik kullanıldı. Cilt testi hastaların ön kolunun volar yüzeyine prik lansetler kullanılarak uygulandı. Her bir allerjenin verdiği cilt reaksiyonunu, uygulamadan 15 dk sonra pozitif ve negatif kontrollerin verdiği reaksiyonla karşılaştırılarak kaydedildi. Çapı 3mm ve üzerindeki kabarıklık pozitif reaksiyon olarak kabul edildi.

### **3.3.6. Yoğunlaştırılmış Nefes Havaasının Elde Edilmesi ve Çalışması**

78 astımlı hastanın yoğunlaştırılmış nefes havaları Çocuk Allerji ve İmmünoloji Bilim Dalı laboratuvarında bulunan yoğunlaştırılmış nefes havası kondensatı (Ecoscreen; Jaeger, Hoechberg, Almanya) cihazı ile hastaların 10 dakika süre ile burun maşası kullanılmadan cihaza normal nefes alıp verme şeklinde üflemleri ile nefesin sıvı volümü toplandı. EBC ölçümleri ERS/ATS önerilerine göre uygulandı (132). 2 saat açlık sonrasında hastalar ağızlarını çalkaladıktan sonra işleme başlandı. Bu yöntem ile nefesin sıvı volümü toplandı. Toplanan havanın biriken sıvı kısmı 130µL'lik yarı saydam polipropilenden üretilen Eppendorf tüplere konarak örnekler analiz edilene kadar -80C° sıcaklıkta saklandı. Çalışmanın sonunda EBC sıvısında yangı sitokinlerinden IL-5, IL-8, akciğer hasar parametrelerinden MMP-9, epitelyal hasarı göstermek için e-cadherin çalışıldı.

#### **3.3.6.1. Yoğunlaştırılmış nefes havasında Soluble E-Cadherin (sE-Cadherin) ölçümü**

Serum sE-Cadherin düzeyleri ticari kit ile ( R & D Systems, Quantikine ELİSA, human sE-Cadherin, Abingdon, İngiltere) ELİSA metoduyla çalışılmıştır.



Kitin çalışma içi korelasyon katsayısı 2.18 ng/mL konsantrasyonda %8.3, 6.49 ng/mL konsantrasyonda %4.4 ve 13.1 ng/mL konsantrasyonda %5.5 olarak saptanmıştır. Kitin alışmalar arası korelasyon katsayısı 2.31 ng/ml konsantrasyonda %10.4, 6.67 ng/mL konsantrasyonda % 8.5 ve 13.3 ng/mL konsantrasyonda % 6.6 olarak saptanmıştır.

### **3.3.6.2.Yoğunlaştırılmış nefes havasında IL-5 lümü lümü**

Serum IL- 5 düzeyleri ticari kit ile ( R & D Systems, Quantikine ELİSA, human sE-Cadherin, Abingdon, İngiltere) ELİSa metoduyla çalışılmıştır. Kitin alışma içi korelasyon katsayısı 28.1 pg/mL konsantrasyonda %3.2, 89.3 pg/mL konsantrasyonda %2.2 ve 170 pg/mL konsantrasyonda %4.2 olarak saptanmıştır. Kitin alışmalar arası korelasyon katsayısı 31.2 pg/mL konsantrasyonda %8, 92.6 pg/ml konsantrasyonda %4.5 ve 174 pg/mL konsantrasyonda %5 olarak saptanmıştır.

### **3.3.6.3.Yoğunlaştırılmış nefes havasında CXCL8/IL8 lümü**

Serum IL- 8 düzeyleri ticari kit ile ( R & D Systems, Quantikine ELİSA, human sE-Cadherin, Abingdon, İngiltere) ELİSA metoduyla çalışılmıştır. Kitin alışma içi korelasyon katsayısı 115 pg/mL konsantrasyonda %4,6, 386 pg/mL konsantrasyonda %4.4 ve 802 pg/mL konsantrasyonda %4.7 olarak saptanmıştır. Kitin alışmalar arası korelasyon katsayısı 132 pg/mL konsantrasyonda %8,1, 410 pg/mL konsantrasyonda %6.8 ve 817 pg/mL konsantrasyonda %5,2 olarak saptanmıştır.

### **3.3.6.4.Yoğunlaştırılmış nefes havasında MMP-9 lümü**

Serum MMP-9 düzeyleri ticari kit ile ( R & D Systems, Quantikine ELİSA, human sE-Cadherin, Abingdon, İngiltere) ELİSA metoduyla çalışılmıştır. Kitin alışma içi korelasyon katsayısı 0.833 ng/ml konsantrasyonda %2, 2.04 ng/mL konsantrasyonda % 1.9 ve 11 ng/mL konsantrasyonda %2.9 olarak saptanmıştır. Kitin alışmalar arası korelasyon katsayısı 0.972 ng/mL konsantrasyonda %7.9, 2.35 ng/ml konsantrasyonda %7.8 ve 12.2 ng/mL konsantrasyonda %6.9 olarak saptanmıştır.

## **3.4. İstatistiksel Analiz**

İstatiksel analiz SPSS 15.0 (Chicago, IL) kullanılarak gerçekleştirildi ve  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Yaş gurubu, IgE, eozinofil sayısı, astım klinik ve medikasyon durumu, SFT değerleri, IL-5, IL-8, MMP-9 ve sE-Cadherin düzeylerini atopik astımlı çocuklar ve nonatopik astımlı çocuklar arasında karşılaştırmak için bağımsız gruplar için Student's t-Test kullandık.

IL-5, IL-8, MMP-9 ve sE-Cadherin ile allerjen türleri arasındaki ilişki için Pearson's Chi Square testi ve Kruskal-Wallis Testini kullandık. IgE, eozinofil sayısı, IL-5, IL-8, MMP-9 ve sE-Cadherin arasındaki korelasyonu değerlendirmek için Pearson Korelasyon katsayısı kullanıldı..

Ölçümleri yapılan medyatörlerden kitin saptayabildiği alt sınırın altında değer bulunanlar, isatistiksel analize saptanabilen alt limit olarak kaydedildi. Pearson's Chi Square testi ve Kruskal-Wallis Testinde allerjen pozitifliği dağılım homojenitesi açısından bir adet mantar karışımı pozitifliği olan hasta analiz dışı bırakılmıştır.

## 4.BULGULAR

### 4.1.Sosyodemografik Özellikleri

Atopik astım grubunu oluşturan 39 çocuğun yaş ortalaması  $9,67 \pm 2,91$  yıl, nonatopik astımlı gruptaki çocukların yaş ortalaması  $9,53 \pm 2,87$  yıl idi. Atopik astımlı gruptaki olguların 19 tanesi (%48,7) erkek, 20 tanesi (%51,3) kız hastalardan oluşurken nonatopik astımlı gruptaki olguların 17 tanesi erkek (%43,6) iken 22 tanesi (%56,4) kız idi (Tablo 5).

**Tablo 5.** Çalışmaya alınan hasta verilerinin sosyodemografik özellikleri\*

	Atopik astım gurubu n= (39)	Nonatopik astım gurubu n= (39)
Yaş*	9,67 (2,91)	9,53 (2,87)
Cinsiyet**		
Erkek	48,7 (19)	43,6 (17)
Kadın	51,3 (20)	56,4 (22)

\*Değerler ortalama (standart deviasyon) şeklinde verilmiştir

\*\* (%) Sayı

### 4.2. Hasta gruplarının astım şiddetine göre dağılımı

Atopik astımlıların 8 tanesi (%20,5) intermitant astım, 27 tanesini (%69,2) hafif persistent astım ve 4 tanesi de (%10,3) orta persistent astımlı olgulardan oluşuyordu. Non

atopik astımlı çocukların 4 tanesi (%10,3) intermitant astım, 25 tanesi (%64,1) hafif persistent astım ve 10 tanesi de (%25,6) orta persistent astımlı olgulardan oluşuyordu. Gruplar arasında astım şiddeti açısından istatistiksel olarak fark yoktu ( $p=0,14$ ) (Tablo 6).

**Tablo 6.** Çalışmaya alınan hastaların astım şiddetine göre dağılımı\*

	Atopik astım gurubu n= (39)	Nonatopik astım gurubu n= (39)	P*
Astım ağırlığı**			0,14
İntermitant	8 (20,5)	4 (10,3)	
Hafif Persistent	27 (69,2)	25 (64,1)	
Orta Persistent	4 (10,3)	10 (25,6)	

\*Pearson Chi-square

\*\*Sayı (%)

#### 4.3. Hasta gruplarının astım klinik ve medikasyon durumuna göre dağılımı

Atopik ve non atopik astımlı hastaların astım tanısı aldıkları yaş istatistiksel olarak anlamlı değildi (Sırasıyla 5,62 (3,44) ve 5,29 ( 3,79 ) yıl,  $p=0,697$ ) (Tablo 7). Son bir yıldaki astım atağı sayısı ve acil servis başvurusu nonatopik grupta atopik gruba göre daha fazla idi ve istatistiksel olarak farklılık gösteriyordu (sırasıyla  $p= 0,002$  ve  $p= 0,006$ ).

Ancak son bir yılda hastanede yatılan gün sayısı gruplar arasında farklılık göstermedi ( $p=0,064$ ). Son bir yılda bronkodilatör ilaç kullanımı nonatopik grupta 8,56 (10,63) gün iken atopik grupta ise 1,77 (3,77) gün idi ( $p= 0,001$ ). Son bir yıl içinde sistemik kortikosteroid ilaç kullanımı gruplar arasında farklılık göstermedi ( $p=0,544$ ) (Tablo 7).

#### 4.4. Solunum Fonsiyon Testi değerleri

Atopik ve nonatopik astımlı hastaların FVC değerleri ORTALAMA (STANDART DEVIASYON) sırasıyla %77,03 ( 18,93) ve %83,82 (14,79), FEV1 değerleri sırayla %87,81 (16,57) ve %91,09 (14,21) idi. Değerler gruplar arasında farklılık göstermedi (Sırasıyla  $p=0,104$  ve  $p=0,382$ ). FEV1/FVC değerleri atopik ve nonatopik hastalarda sırasıyla %107,47 (24,67) ( ve %106,91 (5,6), PEF değerleride ise sırasıyla %83,97 (19,54)

ve %84,36 (14,32) olarak saptandı ve istatikselsel olarak anlamsızdı (sırasıyla p=0,898 ve p=0,925) (Tablo 8).

**Tablo 7.** Çalışmaya alınan hastaların astım klinik ve medikasyon durumuna göre dağılımı\*

	Atopik astım gurubu n= (39)	Nonatopik astım gurubu n= (39)	P**
Astım tanı yaşı	5,62 (3,44)	5,29(3,79)	0,697
Bronkodilatatör tedavi***	1,77(3,77)	8,56 (10,63)	0,001
Kortikosterid tedavisi****	0,10 (0,50)	0,21 (0,92)	0,544
Astım atak sayısı *****	1,23 (1,51)	2,69 (2,42)	0,002
Acil servis başvurusu*****	1,15 ( (1,50)	2,41 (2,35)	0,006
Hastanede yatılan süre*****	0,28 (1,30)	1,23(2,88)	0,064

\*Değerler ortalama (standart deviasyon) şeklinde verilmiştir

\*Student's t Test

\*\*\*Son bir yıl içinde bronkodilatör kullanılan toplam gün sayısı

\*\*\*\* Son bir yıl içinde sistemik kortikosteroid kullanılan toplam gün sayısı

\*\*\*\*\* Son bir yıl içinde astım atağı geçirilen gün sayısı

\*\*\*\*\* Son bir yıl içinde acil servise başvuru yapılan toplam gün sayısı

\*\*\*\*\* Son bir yıl içinde hastanede yatılan toplam gün sayısı

#### 4.5. Atopik astımlı hastalarda allerjen dağılımı

Yapılan allerjen deri testi sonucunda atopik astım grubundaki hastaların hastaların 12 tanesinde (%30,8) ev tozu akarı, 13 tanesinde (%33,3) zeytin poleni, 1 tanesinde (%2,6) mantar sporları karışımı ve 13 (%) tanesinde çoklu allerjen pozitifliği saptandı (Tablo 9).

#### 4.6. Hasta grupları arasında immünglobulin E düzeyleri ve eozinofil sayıları

Atopik astımlı hastalardaki IgE düzeyleri nonatopik astımlı hastalara göre anlamlı yüksekti (Sırasıyla 369,95 (474,33) ve 133,18 (253,78) (p= 0,007). Total eozinofil sayıları da benzer şekilde atopik astımlı hastalarda nonatopik astımlı hastalara göre anlamlı yüksek bulundu (Sırasıyla 387,18 ( 305,62) ve 244,62 (257,16, (p= 0,03) ) (Tablo 10).

**Tablo 8.** Çalışmaya alınan hastaların solunum fonksiyon testi değerleri\*

	Atopik astım gurubu n= (36)	Nonatopik astım gurubu n= (33)	P**
FVC (%)	77,03 (18,93)	83,82 (14,79)	0,104
FEV1(%)	87,81 (16,57)	91,09 (14,21)	0,382
FEV1/FVC ( %)	107,47 (24,67)	106,91 (5,57)	0,898
PEF (%)	83,97 (19,54)	84,36 (14,32)	0,925

\* Değerler ortalama (standart deviasyon) şeklinde verilmiştir

\*Student T testi

**Tablo 9.** Çalışmaya alınan atopik astımlı hastaların duyarlı oldukları allerjenlere göre dağılımı\*

Allerjen Türü	n
Akar	12 (30,8)
Olea	13 (33,3)
Mantar karışım	1(2,6)
Karışık allerjen**	13 (33,3)

\*Sayı (%)

\* \* (Akar + Olea), (Akar + mantar mixed), (Mantar + Olea), (Akar + Olea + mantar)

**Tablo 10.** Çalışmaya alınan atopik astımlı hastaların serum immünglobulin E düzeyleri ve eozinofil sayıları\*

	Atopik astım gurubu n= (39)	Nonatopik astım gurubu n= (39)	P**
İmmünglobülin E (IU/mL)	369,95 (474,33)	133,18 (253,78)	0,007
Eozinofil sayısı/mm <sup>3</sup>	387,18 (305,62)	244,62 (257,16)	0,03

\*Değerler ortalama (standart deviasyon) şeklinde verilmiştir

\*\*Student's t Test

#### 4.6. Hasta gruplarının EBC' deki IL-5, IL-8, MMP-9 ve sE-cadherin değerleri

Atopik ve nonatopik astımlı hasta EBC' deki IL-5, IL-8, MMP-9 ve sE-cadherin değerleri Tablo 11'de verilmiştir.

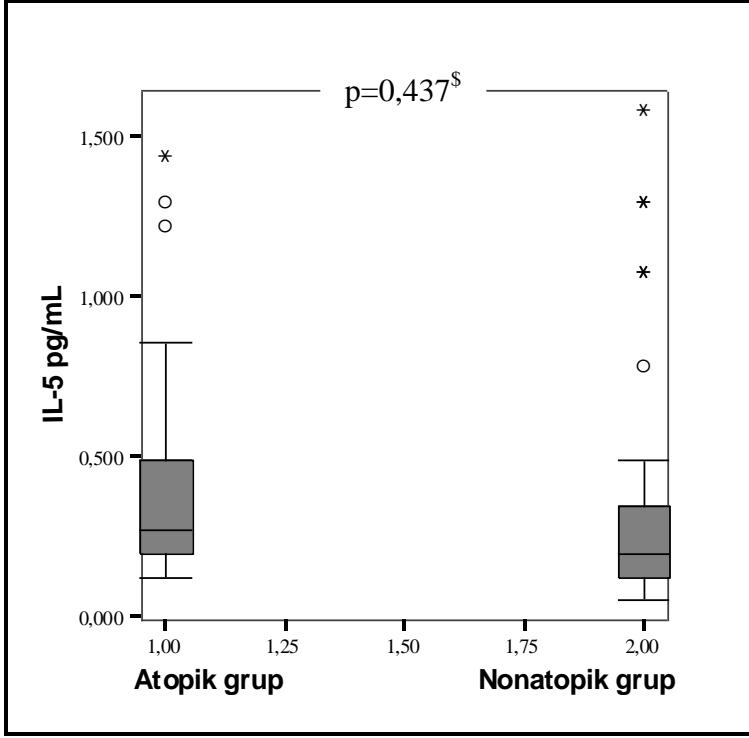
IL-5 düzeyi atopik astım hasta grubunda 0,41 (0,32) pg/mL iken nonatopik astım hasta grubunda 0,34 (0,39) pg/mL saptandı ve gruplar arasında istatikselsel olarak fark saptanmadı (p=0,437) (Şekil 7) (Tablo 11).

**Tablo 11.** Çalışmaya alınan hastalarda EBC'de IL-5, IL-8, MMP-9 ve sE-cadherin değerleri\*

	Atopik astım gurubu n= (39)	Nonatopik astım gurubu n= (39)	P**
IL-5 pg/mL	0,41 (0,32)	0,34 (0,39)	0,44
IL-8 pg/mL	25,48 (86,82)	4,39 (15,48)	0,14
MMP-9 ng/mL	5,68 (12,89)	1,01 (1,78)	0,03
sE-cadherin ng/mL	0,25 (0,29)	0,11 (0,09)	0,08

\*Değerler ortalama (standart deviasyon) şeklinde verilmiştir

\*\*Student's t Test



**Şekil 7:** Atopik ve nonatopik astımlı hastalarda EBC’de IL-5 değerleri

<sup>s</sup> Student’s t Test

IL-8 düzeyi atopik astım hasta grubunda 25,48 (86,82) pg/mL iken nonatopik astım hasta grubunda 4,39 (15,48) pg/mL saptandı ve gruplar arasında anlamlı fark yoktu ( $p=0,139$ ).

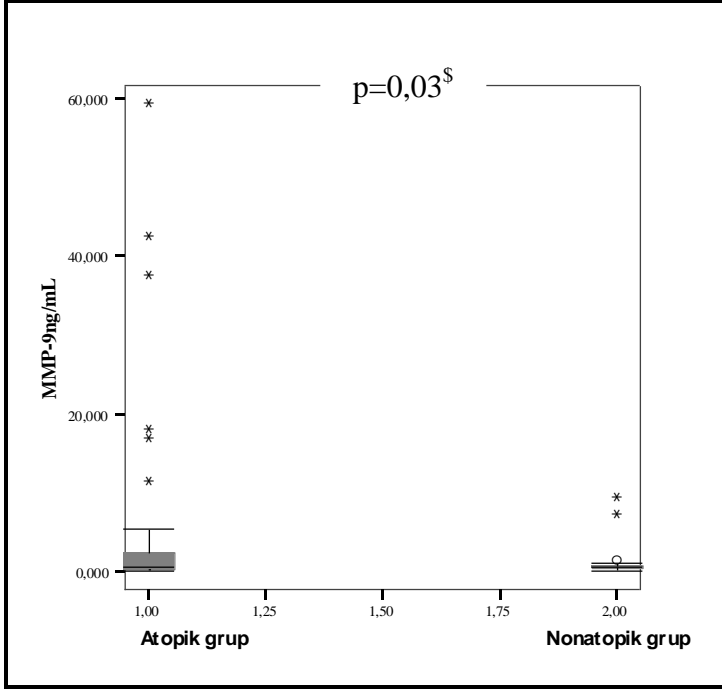
MMP-9 düzeyi atopik astım hasta grubunda 5,68 (12,89) ng/mL iken nonatopik astım hasta grubunda 1,01 (1,78) ng/mL olarak saptandı ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı  $p= 0,03$ ) (Şekil 8).

sE-cadherin düzeyi gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermedi (Sırasıyla 0,25 (0,29) ng/mL ve 0,11 (0,09) ng/mL, ( $p=0,079$ )) (Şekil 9).

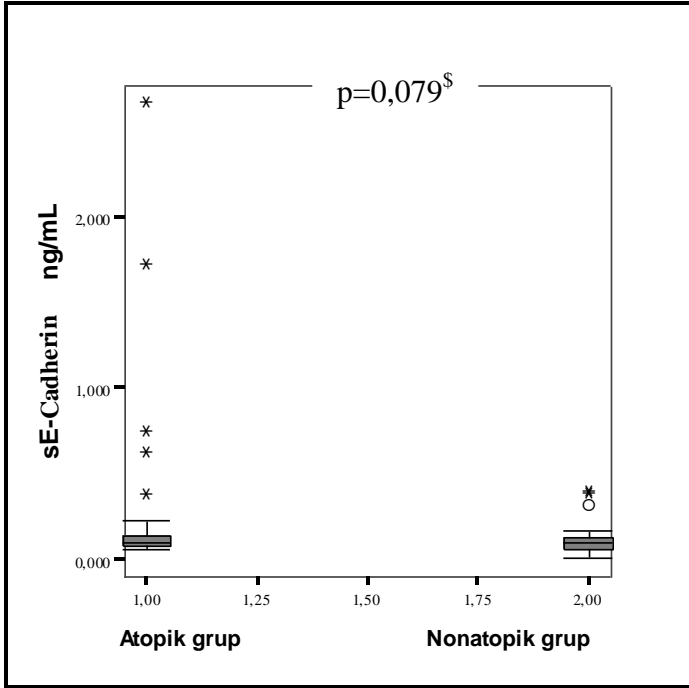
#### **4.7. Atopik astımlı hastalarda allerjen türü ile EBC’ de IL-5, IL-8, MMP-9 ve sE-cadherin medyan ve interkuartil aralıklarının karşılaştırılması**

Atopik astımlı hastalarda IL-5, IL-8, MMP-9 ve E-cadherin ile allerjen türleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı (Tablo 12).





Şekil 8: Atopik ve nonatopik astımlı hastalarda EBC’ de MMP-9 değerleri  
<sup>\$</sup> Student’ s t Test



Şekil 9: Atopik ve nonatopik astımlı hastalarda EBC’ de sE-cadherin değerleri  
<sup>\$</sup> Student’ s t Test

**Tablo 12.** Atopik astımlı hastalarda allerjen türü ile EBC’ de IL-5, IL-8, MMP-9 ve sE-cadherin medyan ve interkuartil aralıklarının karşılaştırılması <sup>a,b</sup>

	Akar n= 12	Olea n= 13	Mixed n= 13	r	P
IL-5	0,308 (0,162-0,562)	0,271 (0,198-0,489)	0,344 (0,198-0,417)	0,154 <sup>§</sup>	0,93
IL-8	0,870 (0,004-41,144)	0,437 (0,004-0,870)	0,870 (0,004- 1,736)	0,893 <sup>§</sup>	0,64
MMP-9	0,855 (0,461-3,704)	0,943 (0,329-2,959)	0,505 (0,417-0,943)	0,484 <sup>§</sup>	0,79
sE-cadherin	0,122 (0,097-0,207)	0,097 (0,077-0,117)	0,087 (0,067-0,107)	5,480 <sup>§</sup>	0,69

<sup>a</sup>Kruskal-Wallis Test

<sup>b</sup>Mantar mixed pozitif bir hasta değerlendirmeye alınmamıştır.

<sup>§</sup> Pearson’s chi square testi

#### **4.8. IgE, eozinofil sayısı, EBC’ de IL-5, IL-8, MMP-9 ve sE-cadherin değerlerinin çapraz karşılaştırılması**

IgE, eozinofil sayısı, IL-5, IL-8, MMP-9 ve E-cadherin değerlerinin çapraz karşılaştırılması için Pearson Correlation Test kullanıldı.

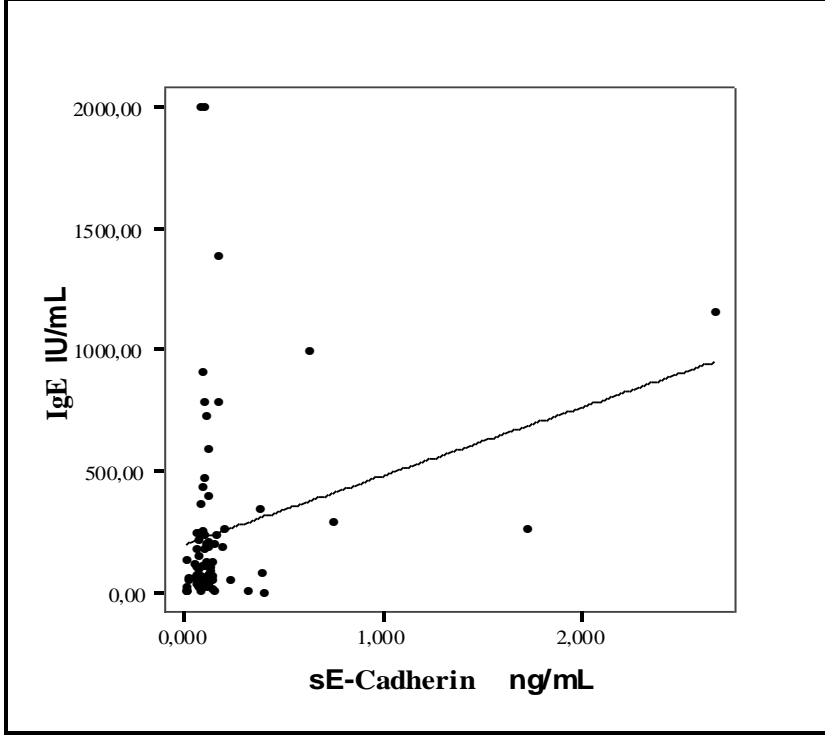
IgE ile eozinofil sayısı, IL-8 ve sE-Cadherin arasında anlamlı bir korelasyon saptandı ( sırasıyla  $r = 0,463$  ve  $p < 0,001$ ;  $r = 0,268$ ;  $p \leq 0,018$  ve  $r = 0,254$  ve  $p = 0,025$ ) (Şekil 10).

IL-5 ile eozinofil sayısı, IL-8, MMP-9 ve sE-cadherin arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmadı.

IL-8 ile IgE, MMP-9 ve e-cadherin arasında anlamlı ilişki saptandı (sırasıyla  $r = 0,268$  ve  $p = 0,018$ ;  $r = 0,722$  ve  $p < 0,001$ ;  $r = 0,954$  ve  $p < 0,001$ ) (Şekil 11, 12).

MMP-9 ile IL-8 ve sE-cadherin arasında anlamlı ilişki saptandı (sırasıyla  $r = 0,722$  ve  $p < 0,001$ ;  $r = 0,817$  ve  $p < 0,001$ ) (Şekil 11,13).

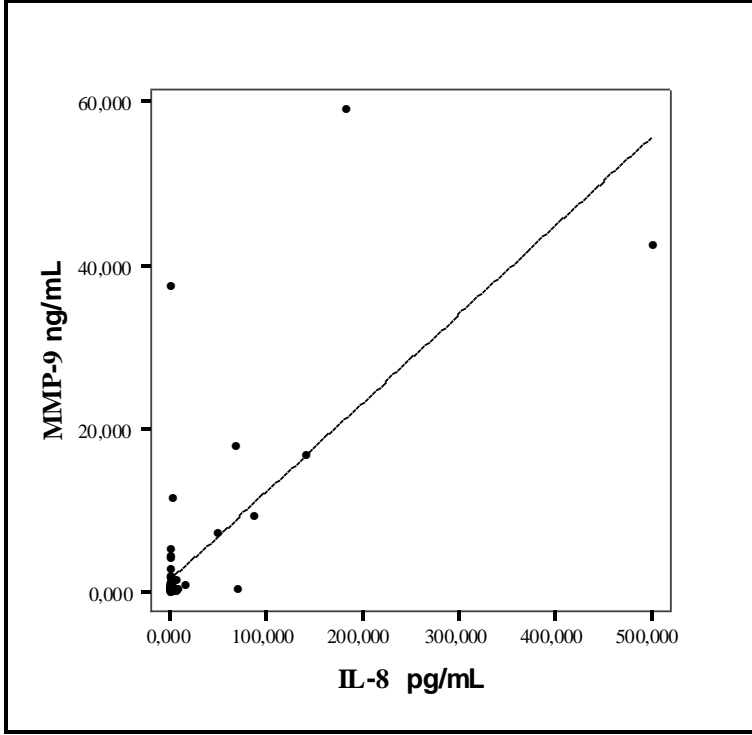
sE- Cadherin ile IgE, IL-8 ve MMP-9 arasında anlamlı ilişki saptandı (sırasıyla  $r = 0,254$  ve  $p = 0,254$ ;  $r = 0,954$  ve  $p < 0,001$ ;  $r = 0,817$  ve  $p < 0,001$ ) (Şekil 12,13).



$r = 0,254^*$   
 $p = 0,025$

Şekil 10. IgE ile sE-cadherin arasındaki korelasyon

\* Pearson Correlation Test

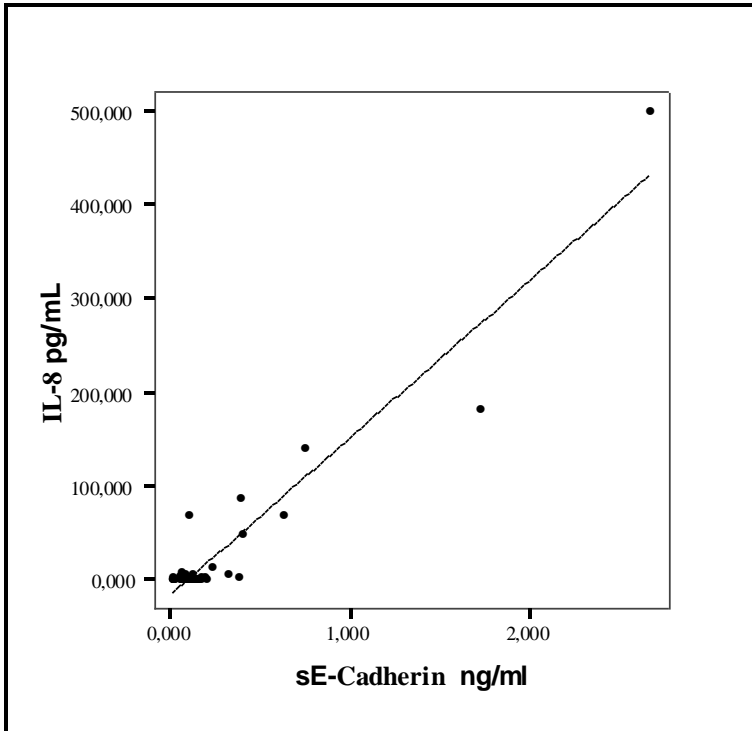


$r = 0,722^*$

$p < 0,001$

Şekil 11. IL-8 ile MMP-9 arasındaki ilişki

\* Pearson Correlation Test

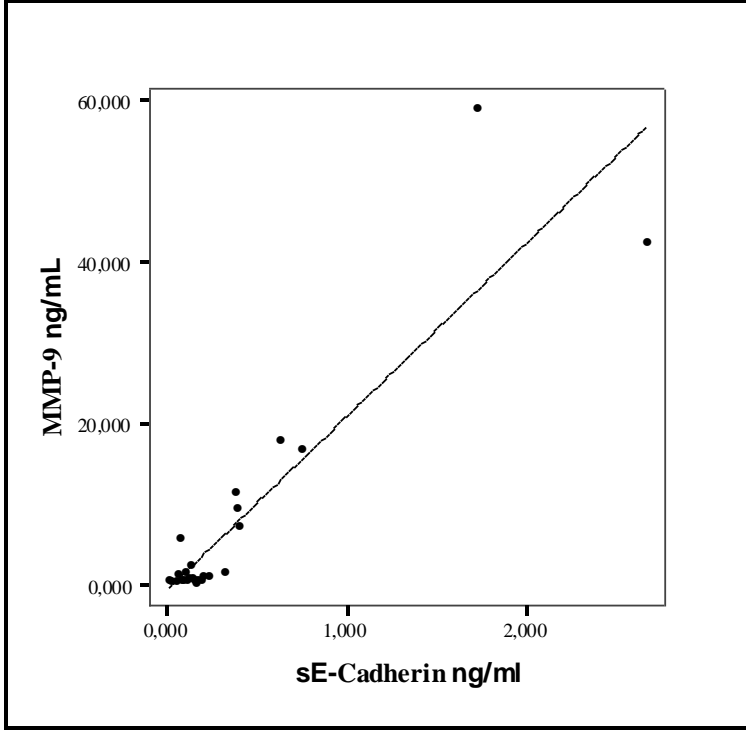


$r = 0,954^*$

$p < 0,001$

Şekil 12. IL-8 ile sE-cadherin arasındaki ilişki

\* Pearson Correlation Test



$r = 0,817^*$

$p < 0,001$

Şekil 13. MMP-9 ile sE-cadherin arasındaki ilişki

\* Pearson Correlation Test

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmanın sonucunda yoğunlaştırılmış nefes havasında akciğer hasar parametrelerinden olan MMP-9 düzeylerinin atopik astımlı çocuklarda nonatopik astımlı çocuklara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Benzer şekilde yoğunlaştırılmış nefes havasında epitel bariyer komponentlerinden biri olan sE-cadherin düzeyleri de atopik astımlı çocuklarda nonatopik olanlara göre yüksek bulunmuştur. Ancak IL-5 ve IL-8 düzeylerinin atopik ve nonatopik astımlı çocuklardan elde edilen yoğunlaştırılmış hava örneklerinde farklı olmadığı gözlenmiştir.

Solunum yolu hastalıklarının patolojik ve biyolojik süreçlerinin tanımlanması hem tanı hem de tedavi açısından gelişmelere olanak sağlayacağı için önem taşımaktadır (131). Bununla birlikte, akciğer hastalıklarında erken tanı, izleme ve takip sağlayacak özel noninvazif belirteçlerin saptanması göğüs hastalıkları açısından önemli bir hedeftir (138). Çocukluk çağında bu daha fazla anlam taşır çünkü mevcut tanı yöntemlerinin bir çoğu hastanın kooperasyonunu gerektirmesi, diğer bazıları ise invazif olmaları nedeni ile etkin kullanılamamaktadır. Göğüs hastalıkları açısından sıklıkla kullanılan tanısal yöntemlerden biri olan akciğer fonksiyonu ölçümü küçük çocuklarda etkin işbirliği gerektiği için değerlendirilememekte, havayolu inflamasyonunu değerlendirmede kullanılan bronş biopsisi ve BAL gibi mevcut yöntemler ise invazif olmaları nedeni ile rutin kullanımlarında sıkıntılar ortaya çıkmaktadır (138,140). Bu nedenle son yıllarda özellikle hastalıkların izleminde kullanılacak noninvazif yöntemler üzerinde gelişmeler sürmektedir. Bu yöntemlerden biri olan EBC toplanması patofizyolojik mekanizmalara yaklaşım açısından noninvaziv bir araştırma aracı olarak kullanılan gelişmekte olan bir teknolojidir (138). EBC de inflamatuvar ürünlerin analiz edilmesi hastanın minimum kooperasyonunu gerektirdiği için küçük çocuklarda dahi uygulanabilirlik açısından umut vericidir (141). EBC nin tanısal gücü Amerikan Toraks Derneği ve Avrupa Solunum

Derneği (ATS / ERS) nin ortak raporunda kabul edilmektedir (132). EBC nin epitel yüzey sıvısı içeriğini temsil ettiğine inanılmakta ve havayolu inflamasyonuna değişik açıdan bakmamızı sağlayacak çalışmalar için çeşitli belirteçler sunmaktadır (131,141). İnvaziv tekniklerden çekinildiği için noninvaziv bir yöntem olan EBC de inflamatuvar belirteçlerin ölçümüne ilgi artmaktadır (140). Bu bileşiklerin rölaf olarak volatilizasyonu onların havayolu yüzeyindeki konsantrasyonu, moleküler yapısı ve kimyasal özellikleri, nefes hızı ve derinliği, ekshale havanın sıcaklığı ve tarkeobronşial ağacın yaratmış olduğu türbülans ile değişmektedir. Merkezi ve periferik havayolları (örneğin, prostaglandinler ve sitokinler olarak) yanı sıra, alveoler membran (örneğin yüzey aktif proteinleri gibi) biyomoleküllerin EBC tespit edilmiş olmakla beraber, havayolu bölümlerinin katkısı tam olarak bilinmemektedir. EBC hücre içermemekle beraber ekshale DNA mutasyonları EBC örneklerinde başarıyla çalışılmıştır (131). Bu nedenle bu çalışmada EBC yöntemi kullanılarak atopik ve nonatopik astım patogenezindeki farklılıklar incelenmeye çalışılmıştır. Özellikle EBC lokal patogenetik mekanizmalar açısından fikir vereceği için önem taşımaktadır. Bu amaçla eozinofilik inflamasyon göstergesi olarak IL-5, nötrofilik inflamasyon göstergesi olarak IL-8, epitelyal bütünlüğü sağlayan AJ proteinlerinden e-cadherin ve doku hasarında rolü olan MMP-9 un EBC deki düzeyleri incelenmiştir. Bu belirteçlerdeki farklılıklar iki farklı astım fenotipinde tedavi ve izlem için farklı yolları bize işaret edebileceği düşünülmüştür.

Astım kompleks bir hastalık olup hastalık spektrumunda değişik şiddette olan havayolu obstrüksiyonu, çeşitli uyaranlara karşı BHR ve havayolu inflamasyonu ile karakterizedir. Hastalıkta allerjik komponent sıklıkla görülmektedir.

Farklı patolojik fenotipleri olan heterojen bir hastalıktır, sonuçta farklı patofizyolojik yollar astım kliniğinde farklılıklara neden olur. Havayolu inflamasyonu ve havayolu remodellingi astımın şiddeti klinik olarak hafif olsa bile hastalığın karakteristik özellikleridir.

Astımlı bir çok hastada bulunan inflamasyon tipik bir Th2 profili olmayıp inflamasyon patogenezinde innat immün sistem de önemli rol oynamaktadır (108).

Ekstresek ve intrensek astım ilk olarak 1947 yılında Rackermann tarafından tanımlanmıştır. Yazar hastalığın bir formunun bazı hastalarda semptomların tetiklendiğini ve diğer grupta tetikleyici faktörlerin bulunmadığını gözlemlemiştir. İlk olanı ekstresek

astım ve sonrakini de intrinsek astım olarak isimlendirmiştir (142). Ekstresek astım (Atopik astım) bronşial mukozada allerjenlere karşı Th2 aracılı immün yanıtın baskın olduğu sitokin paterni, yaygın aeroallerjenlere karşı SPT pozitifliği, dolaşımda spesifik IgE antikoru varlığı ve havayolu aşırı duyarlılığı ile karakterizedir (143). Allerjik sensitizasyon gösterilemeyen nonatopik astım özellikle çocuklarda daha az karakterizedir.

Paul Erlich'in 1879 yılında eozinofilleri tanımlamasından sonra astımda havayolu dokusu ve balgamda bulunan eozinofillerin astımda temel inflamatuvar hücre olduğu konusunda konsensus sağlanmıştır. Balgam analizi, BAL ve yaşayan hastalardan alınan endobronşial biopsi örnekleri ve astımdan ölen hastaların postmortem doku örneklerinde astımlıların çoğunluğunda eozinofil sayıları yüksek bulunmuştur (144). Astım indükte balgamdaki inflamatuvar hücreler temelinde hücresel sınıflandırmaya göre eozinofilik, nötrofilik, miksed eozinofilik ve paucigranülositik olarak dört kategoride değerlendirilmektedir. İndükte balgam örneklerinin hücresel içeriği kapsamında noneozinofilik astım tedavi almayan astımlılarda %25 e kadar, tedavi alanlarda %50 ye kadar görülebilmektedir. Eozinofilisi olan ve olmayan hastalar karşılaştırıldığında noneozinofilik astımlı hastalar astım tedavisinde altın standart olan ICS tedavisine zayıf yanıt vermektedirler (144). Bu nedenle çalışmamızda atopik ve nonatopik astımlı çocuklar eozinofilik ve nötrofilik yangının rolünü değerlendirebilmek amacı ile EBC de eozinofilik göstergelerden biri olan IL-5 ve nötrofilik yangı göstergelerinden biri olan IL-8 incelenmiştir. Drews ve arkadaşlarının nonatopik astımlı çocukların balgamında anlamlı oranda yüksek nötrofil bulunurken atopik astımlı çocukların çoğunda balgam eozinofil artışı olduğunu bildirmiştir (145). Eozinofili en sık allerjen aracılı inflamasyonun olduğu klasik atopik astımda görülür ve ciddi durumlar dışında genellikle İKS' e eozinofil sayısının azalması, havayolu obsruksiyonu ve semptomlar açısından iyi yanıt vardır (144). Ancak çalışmamızda EBC değerlendirildiği ve EBC de hücresel eleman olmadığı için eozinofil sayısı periferik kanda bakılmış, EBC de ise sadece IL-5 incelenmiştir. Bu nedenle de atopik astımlı çocuklarda periferik kanda yüksek eozinofili saptanmış ancak EBC IL-5 düzeylerinden istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır. Th2 hücreler IL-4 ve IL-13 aracılığıyla IgE sentezini uyarırken eozinofil maturasyon ve yaşam süresinde IL-3, IL-5 ve GM-CSF rol alırlar, IL-5 astımlıların havayolunda eozinofilik inflamasyonu destekler (134,146,147,148). Buna karşın bizim EBC örneklerimizde atopik ve nonatopik astımlı çocuklarda IL-5'in farklı olmasının en önemli nedeninin eozinofiller için primer proliferatif sitokin olsa da IL-5



tek başına eozinofil ağırlıklı ya da değil demek için yeterli olmamıştır. Ancak bir diğer önemli nedenin sistemik ve lokal enflamasyon arasındaki fark olabileceği akılda tutulmalıdır yani her ne kadar atopik astımlı çocuklarda sistemik eozinofilik yangı ön plana çıksa da bu lokal inflamasyon ile eşdeğer olmak zorunda değildir. Bu iki farklı açıklamanın değerlendirilmesi için daha önce yapılan çalışmalar ışık gösterici olup ilk açıklamanın daha geçerli olduğunu düşündürmektedir.

Pediyatrik astımda havayolu sitokin profiliyle ilgili veriler genç hastalardan havayolu sekresyonları elde etmek zor olduğu için oldukça sınırlıdır. Bildiklerimizin çoğu erişkin hasta çalışmalarından gelmektedir (149). Bu nedenle çalışmamızın pediyatrik yaş grubunda yapılmış olması yeni veri sağlamakla birlikte daha önceki çalışmalar ile karşılaştırmayı güçleştirmektedir.

Astımlı erişkinlerde yapılan bir dizi bronş biopsisinde hem atopik hem de nonatopik astımlılarda eozinofil infiltrasyonu ve IL-4 ve IL5, eozinofil kemotaktik sitokinler ve reseptörlerin yüksek olduğu gözlenmiş ve bunun nonatopik astımlılarda henüz tespit edilemeyen bir allerjinin ya da sistemik değil lokal IgE yapımına bağlı olabileceği düşünülmüştür (150). Humpert ve ark. atopik ve nonatopik astımlı hastalarda reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR), in situ hibridizasyon ve immünohistokimyasal olarak bronş biopsilerinde IL-5 mRNA ve proteinlerinin benzer şekilde yüksek olduğunu gösterdi (148). Tang ve arkadaşları ise çalışmalarında atopik ve nonatopik astımlı hastalardan elde edilen stimüle edilmemiş BAL hücrelerinde benzer düzeylerde IL-5 salınımı olduğunu ancak BAL hücrelerinin HDM stimüle edildiklerinde atopik astımlı grubun nonatopik astımlı gruba göre daha fazla IL-5 salgıladıklarını göstermişlerdir (147). Son dönemde yapılan bir çalışmada kronik astımlı hastaların asemptomatik döneminde atopik hastaların indükte balgamında yüksek eozinofil düzeyleri saptanmış ancak IL-5 düzeyleri atopik ve nonatopik astımlı hastalarda farklılık göstermemiştir (151). Bu sonuç da bizim çalışmamızdaki eozinofil ve IL-5 arasındaki uyumsuzluğu desteklemektedir; diğer bir deyişle atopik astımlı çocuklarda nonatopik astımlı çocuklara göre periferik eozinofili yüksek olmasına karşın bu EBC de IL-5 düzeylerine yansımamıştır. Bunun yanında Amin ve ark. atopik ve nonatopik astımlı hastaların bronş biopsilerini karşılaştırdıklarında IL-5 pozitif hücrelerin atopik grupta daha fazla olduğunu göstermişlerdir (152).

Bizim çalışmamızda atopik ve nonatopik astımlı çocukların EBC örneklerinde IL-5 düzeyleri guruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark göstermedi. Daha önce belirttiğimiz çalışmalar yöntem olarak bizim çalışmamızdan farklıydı. Bizim çalışmamıza benzer şekilde EBC kullanılarak okul öncesi çocuklarda yapılan bir çalışmada ise atopik astımlılar ile viral wheezingli çocukların EBC örneklerinde IL-5 düzeyleri farklılık olmadığı gösterildi (153). Bu sonuçlar atopik ve nonatopik astım patolojisinin havayollarında eozinofil sayıları, mukozal mast hücreleri ve T hücrelerindeki artışın benzer olmasıyla açıklanabilir. Benzer şekilde nonatopik astımlı hastalarda lokal IgE sentezinin olduğu bildirilmiştir. Astımdaki bu bulgular benzer patoloji ve sitokin salgılamasının olduğu allerjik ve non allerjik rinit ve dermatit ile de paralellik göstermektedir. Atopik astımda inflamasyon HDM, kedi epiteli gibi eksternal antijenlerin yüksek ve düşük afiniteli IgE reseptörleriyle etkileşmesi ile olurken nonatopik hastalıkta lokal IgE sentezi ve yüksek afiniteli IgE salgılanmasına rağmen allerjen tanımlanamamaktadır. Bu da sistemik duyarlanma olmaksızın tanımlanmamış harici antijenlerin, enfektif bir ajanın ya da bir endojen allerjenin atopinin hücrel mekanizmasını aktive ettiğini düşündürmektedir (146).

Periferik kan ve havayolu sekresyonlarında eozinofil sayısının artması astımın karakteristik bir özelliğidir (108). Ancak astımda eozinofilik inflamasyon yanında astımda nötrofilik inflamasyon da görülmektedir. Nötrofil sayısı hafif ve orta ağırlıklı astımlı hastaların havayolu sekresyonlarında artmaz fakat şiddetli astımlı hastaların havayolu sekresyonlarında normalden fazla olduğu gösterilmiştir. Nötrofili relatif olarak kortikosteroid direnciyle birlikte olabilir. Ayrıca nötrofilinin şiddetli astım ve akut astım atağı olan astımlı hastaların yanı sıra akut ve kronik enfeksiyon, obez, sigara içen ve pollutanlar gibi irritan maruziyeti, olduğu dikkati çekmektedir (108,129). IL-8 muhtemelen çeşitli derecelerde doğrudan veya dolaylı olarak nötrofil infiltrasyonu ve aktivasyonunu indükleyerek astım tablosunda rol oynamaktadır (84). EBC kullanılarak okul öncesi çocuklarda yapılan çalışmada atopik astımlılar ile viral wheezingli ve sağlıklı çocukları içeren bir grup olgunun karşılaştırılmasında EBC örneklerinde IL-8 düzeylerinin guruplar arasında farklılık göstermediği rapor edilmiştir (153). Benzer şekilde bizim çalışmamızda da atopik astımlı çocuklar ve nonatopik astımlı çocukların EBC örneklerinde IL-8 düzeyi guruplar arasında anlamlı farklılık göstermemiştir. Atopik ve nonatopik astımlı hastaların bronş biopsilerinin karşılaştırdıkları bir çalışmada ise IL-8 pozitif hücrelerin nonatopik gurupta daha fazla olduğunu gösterilmiştir (152). Bu çalışmanın sonuçları bizim

çalışmamızın sonuçlarıyla uyuşmamaktadır. Bunun nedeni bizim çalışmamızdaki olguların daha önce belirtilen çalışmadakilere göre daha hafif hastalardan oluşması olabilir; nötrofilik yangı açısından en önemli faktör astım ağırlığıdır. Bu görüşümüzü destekler nitelikte bu çalışmada hasta gruplarında hastalık şiddeti belirtilmemiştir ancak nonatopik astımlı guruptaki hastaların SFT değerlerinin atopik astımlı hasta grubuna göre daha düşük olduğu görülmektedir. Bugüne kadar IL-8 ve astım birikteliği üzerine yapılan çalışmalarda atopik ve nonatopik astımdaki nötrofilik inflamasyon ve IL-8 ilişkisinden ziyade daha çok hastalık şiddeti ile ilişkisi çalışılmıştır. Astımlı ve persistent wheezingli çocukların alındığı bir çalışmada BAL daki nötrofil sayısı ile IL-8 arasında anlamlı korelasyon gösterilmiştir (154). Biz çalışmamızda atopik ve nonatopik astımlı hastalarda nötrofilik inflamasyon göstergesi olan IL-8 düzeyini değerlendirdik, hastalık şiddetine göre değerlendirme yapmadık. Ancak atopik ve nonatopik astımlı hastalarımızın tamamını intermitant, hafif ve orta persistan astımlı hastalar oluşturduğu için nötrofilik inflamasyonda ve onun üzerinde önemli etkisi olan IL-8 düzeylerinde gruplar arasında anlamlı fark olmaması önceki raporlarla benzer şekilde IL-8 düzeyleri üzerinde hastalık şiddetinin daha önemli rol oynadığını desteklemektedir. Benzer şekilde nonenfeksiyöz status astmatikusda BAL’ da nötrofil sayısı ve IL-8 düzeylerinin belirgin şekilde arttığının gösterilmiştir (84). Bizim çalışmamızdaki hasta gruplarını hafif ve orta ağırlıkta astımlılar oluşturduğu göz önüne alınırsa IL-8 düzeylerinde fark olmaması IL-8 düzeylerinin hastalık şiddetiyle korele olduğunu desteklemektedir.

IL-8 değerleri astım şiddetiyle korele olarak bildirilse de bunun aksi yönünde IL-8 ve astım şiddeti arasında ilişkinin saptanamadığı çalışmalarda vardır. Şiddetli ve orta ağırlıklı astımlı hastaların alındığı bir çalışmada indükte balgamdaki IL-8 düzeyleri şiddetli astım gurubunda daha yüksek saptanmasına rağmen hasta sayısının yetersizliğinden dolayı istatistiksel olarak anlamlı bulunulmadığı rapor edilmiştir (155).

Havayolu remodellingi astımın karakteristiğidir. Remodelling glanduler hiperplazi, düz kas tabakasının hipertrofisi retikuler bazal membran kalınlaşmasını içerir. Havayollarının yeniden yapılanması çocukluk çağı astımının erken dönemlerinde görülür. Ancak sürecin ne zaman başladığı konusunda tartışmalar vardır. Yetişkin astımlı hastalardan elde edilen verilerle bronşiyal epitel hücreleri ve havayolu düz kas hücrelerinin herikisindeki fizyolojik farklılıkların keşfi havayolu remodellinginin bu hücrelerden ziyade inflamatuvar hücreler tarafından gerçekleştirildiğini düşündürmektedir. (156).

Proteolitik enzimler doku remodellinginde ve havayolu duvarı tamirinde önemli rol oynarlar (157). MMP' lar proenzim olarak salgılanırlar ve diğer proteazlar, reaktif oksijen ürünleri (ROS) ve lipocalin gibi nötrofil proteinleri tarafından aktive edilirler. MMP aktiviteleri nonspesifik inhibitörlere (alfa globulin gibi) ya da metalloproteinaz doku inhibitörlerini içeren spesifik inhibitörlere bağlanmakla inhibe edilir (156,157). Kollagen substratlarındaki MMP' ların net etkisi MMP'lar, onların aktivatörleri ve onların inhibitörleri arasındaki dengeye bağlıdır. Gelatinaz B olarak da bilinen MMP-9 ECM' deki kollagen tip 4 ü yıkar fakat aynı zamanda elastin ve diğer yapısal proteilerini de yıkarak bazal membran yıkımında önemli rol oynamaktadır ve bazı sitokinlerin salınımına neden olmaktadır (156). MMP-9 bronşiyal epitel hücreleri, nötrofil, mast hücreleri, eozinofiller ve makrofaj gibi çeşitli inflamatuvar hücrelerde saptanmıştır fakat özellikle nötrofillerden kaynaklanır. Havayolu epitelin onarım mekanizması ile hücre migrasyonunda önemli rol aldığı ileri sürülmektedir (156-158).

MMP-9 düzeyi sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında astımlılarda, şiddetli astımlılarda orta şiddetli astıma göre artmış olarak bulunur (157). MMP-9 akut astım ataklarında kanda, balgamda ve BAL sıvında artabilir. Allerjen yüklemesi sonrası havayollarında MMP-9 ekspresyonunun indüklendiği görülür. (156,159). MMP-9 silinmiş farelerle yapılan çalışmada allerjen yüklemesiyle daha az peribronşial fibrozis olduğu gösterilmiştir (159). Bu veriler göstermiştir ki allerjen yüklemesi MMP-9 u da içeren daha sonra astımda remodellinge neden olacak bronşial hasarın başlamasına neden olan faktörlerin oluşmasına neden olmaktadır (160). Teori olarak metalloproteinaz artışı kollagen yıkımına TIMP düzeylerinde artış kollagen depolanmasına neden olacaktır. Bizim çalışmamızda atopik astımlı hastalarda MMP-9 düzeyinin nonatopik astımlı hastalardan anlamlı olarak yüksek saptanması proteaz özelliği olan allerjenlerin daha fazla doku hasarına, inflamatuvar sitokin salınımına ve remodellinge yol açtığını desteklemektedir. Çalışmamızda MMP-9 ile IL-8 arasında anlamlı korelasyon saptanması da bu görüşü desteklemektedir. Çalışmamızın sonuçları benzer şekilde astmatik hastaların indükte balgamında MMP-9 aktivitesinin kontrol vakalarına göre artmış olduğu ve allerjen yüklemesinden sonra aktivitenin arttığı çalışmanın sonuçlarıyla paralellik göstermektedir (161). Başka bir çalışmada atopik ve nonatopik astımlı çocukların serumunda bakılan MMP-9 düzeylerinin kontrol gurubuna göre anlamlı fark gösterdiği ama guruplar arasında MMP-9 düzeyi atopi açısından anlamlı fark göstermediği raporlanmıştır. Ancak bu

çalışmadaki sonuçlar atopik ve nonatopik astımlı çocuklarda sistemik inflamatuvar yanıtı değerlendirmekte olup allerjik inflamasyon patogenezinde daha önemli olan havayolundaki lokal inflamatuvar yanıtı yansıtmamaktadır. Bu nedenle bizim çalışmamızda EBC örneklerinden elde ettiğimiz sonuçlar lokal inflamasyonu gösterdiğinden dolayı sistemik sonuçlarla uyuşmaması doğaldır (162). Bunun aksi yönünde atopik astımlı hastaların indükte balgamında MMP-9 düzeylerinin nonatopik astımlı hastalara göre daha yüksek olarak saptandığı ancak istatistiksel olarak farkın olmadığı raporlar da bildirilmiştir (163).

MMP-9 düzeylerinde artış havayolundaki nötrofiliyle beraber bulunabilir. MMP-9 düzeyleri IL-8 e bağlı nötrofil toplanmasından etkilenebilir (158). Nötrofil hücre kültürlerine IL-8 ilave edildiğinde MMP-9 un hızlı şekilde salındığı gözlemlenmiştir. Erişkinlerde yapılan bir çalışmada eozinofilik astımda MMP-9 aktivitesi nötrofilik astıma göre anlamlı derecede yüksek olarak bulunduğu ve astımda IL-8 ile MMP-9 arasında belirgin ilişki saptandığı bildirilmiştir (157). Bizim çalışmamızda da MMP-9 düzeyi ile IL-8 arasınada anlamlı bir korelasyon saptandı. Bu korelasyon atopik astımlı hastalarda nonatopik astımlı hastalara göre dolaylı olarak havayolu inflamasyonunun daha yoğun olduğunu buna bağlı olarak atopik astımlı hastalarda MMP-9 salınımının inflamatuvar hücrelerden kaynaklandığını ve havayolu epitelin onarım mekanizması ile hücre migrasyonunda önemli rol aldığını desteklemektedir.

Diğer inflamatuvar durumlarda özellikle nötrofilik inflamasyonun birlikte olduğu bronşiektazide de MMP-9 yüksekliği gösterilmiştir (156). Artmış MMP-9 seviyesi astımda havayolu yeniden yapılanması ile sonuçlanan bronşiyal hasarın başlaması ile ilişkili olarak yorumlanabilir. Sonuç olarak Astımlı hastalarda doku hasarı ve remodellingi erken dönemde saptamada ve uygun tedavi yaklaşımında bulunulması açısından EBC kullanımı uygun bir seçim olarak değerlendirilmelidir.

Astımlı kişilerde çoğu zaman genetik bir yatkınlık vardır, ancak çevresel faktörler ile etkileşim hastalığın ortaya çıkması için kritik öneme sahiptir. Dış çevreye karşı bir bariyer olarak bronş epiteli astımdaki gen çevre etkileşiminde anahtar rol üstlenmektedir (164). Havayolu epiteli sürekli ve oldukça düzenli bir şekilde fiziksel bariyer olarak havayolu lümenini kaplar. Aeroallerjenler, kirleticiler ve patojenler gibi inhale edilen çevresel ajanlara karşı korur (94,165). Günümüzde havayolu epitelinin basit bir fiziksel bariyer olmasının yanı sıra çevresel tetikleyiciler için immün yanıtın önemli bir düzenleyicisi olduğu bilinmektedir. Epitelyal bariyer fonksiyonu TJs, gap junctions, adherens junctions,

ve desmozomların uygun hücre hücre bağlantılarıyla sürdürülür (165). TJ' lar epitelyal hücrelerin apikolateral sınırında yerleşerek iç ve dış ortam arasındaki paraselüler trafikteki majör bariyeri oluştururlar. Epitel hücrelerinin TJ' lar arasındaki bütünlüğünü E-kaderin- aracılı normal homofilik bağlantıların etkilediğine dair kanıtlar vardır. E-cadherin epitel hücreleri üzerinde eksprese edilen kalsiyum bağımlı adezyon molekülüdür ve esas olarak homofilik hücre-hücre adezyonuna aracılık eder. E-cadherinin sitoplazmik domaini  $\alpha$ -,  $\beta$ - ve  $\gamma$ - catenin adlı üç proteinle bağlantılıdır ki bu da E-cadherinin aktin cytoskeletona bağlanmasını sağlar (166,167). Düşük kalsiyum konsantrasyonu ve E-cadherine karşı blokan antikorların varlığında yalnızca E-cadherinin kendisi değil aynı zamanda ZO-1 ve aktin filamentleride dağılır. Aktin filamentlerindeki dağılıma TJ bariyerlerinin fonksiyonel ve morfolojik olarak bozulmasına neden olur. Bundan dolayı e-cadherinin fonksiyonel aktivitesi ve normal ekspresyonu epitel hücreleri arasındaki TJ' ların devamlılığının sağlanması ve havayolu epitel hücrelerinde paraselüler bariyerin normal fonksiyonunun devamlılığının sağlanmasında önemlidir (166).

E-cadherinin downregulasyonu epitelyal mezenşimal transition (EMT)' un önemli bir komponentidir, bu süreç hücre göçü, tamiri ve doku remodellingini içerir (168). E-cadherinin downregulasyonu TARK kemokini aracılığıyla Th2 tip aracılı immün yanıtı uyarabilir, inflamatuvar hücre toplanmasına katkıda bulunur. İnflamatuvar hücrelerin aktivasyonunun artması, proteaz salınması astımda havayolu epitelinde frajiliteye katkıda bulunur (167).

Gelişmiş ülkelerde atopi çocukların ve genç erişkinlerde %40 a varan oranda görülmektedir ancak bunların yalnızca üçtebirinde astım gelişmektedir. Buna ek olarak sistemik atopi astım gelişimindeki rolü alt havayollarının aeroallerjenlerle lokal sensitizasyonu kadar önemli görülmemektedir. Astmatik epitel TJs formasyonundaki eksik oluşumu nedeniyle fiziksel bariyer fonksiyonu doğal olarak defektiftir böylece inhalen allerjenlerin havayolu dokusu içine penetrasyonu kolaylaşmıştır. HDM, hamam böceği, hayvan ve fungal allerjen komponentleri, bazı ağaç ve ot polenleri (*Olea europaea*, *Dactylis glomerata* gibi) gibi proteaz salgılayan çevresel faktörler, proteaz salgılayan eozinofil ve nötrofiller ZO-1 ve E-cadherin moleküllerini degrade edebilir (100, 167,169). Ek olarak proteazlar proinflamatuvar gen transkripsiyonuna neden olan PAR' leri aktive ederler. PAR-2 reseptörleri havayolu epiteli tarafından eksprese edilmektedirler. Reseptörün kendisi sitokin salınımına neden olacak sinyal aktivasyonuna, metalloproteinaz

aktivasyonuna , HDM antijeninin başlatmış olduğu sinyalin iletimine ve havayolu hiperreaktivitesine neden olur (170). Son dönemde PAR-2 aktivasyonunun E-caderin aracılı hücre-hücre bağlantısını bozduğu gösterilmiştir. Ancak şu anda proteaz içeren allerjenlerin niçin yalnızca astımlı hastalarda yapısal değişiklikleri uyardığı ve sağlıklı epitelde değişikliğe neden olmadığı tam olarak anlaşılamamaktadır (168,171).

Havayollarının kronik inflamatuvar hastalığı olarak tanımlanan bronşial astımda trakeobronşiyal epitel, epitel dökülmesi ve TJ' ların açılması gibi histolojik özellikleri gösterir (166). 1990 ların başlarında ultrastruktürel çalışmalarda astmatik hastaların nonastmatik hastalarla karşılaştırıldığı çalışmalarda daha az interselüler adezyon junction komplekslerine sahip olduğu gösterilmiştir fakat bu yapısal farklılıkların altında yatan mekanizmalar açıklanamamıştır. Son çalışmalarda astmatik epitelde adezyon proteinleri e-cadherin ve ZO-1 in azalmış ve tahrif edilmiş ekspresyonunu görüldüğü ifade edilmiştir. Epitelyal bariyer hasarına indirek olarak inflamatuvar medyatörlerin salınımına bağlı junctional proteinlerin baskılanması ya da doğrudan allerjenlere bağlı olarak ayrılma öne sürülen mekanizmalardır. Bu epitelyal bariyer fonksiyonundaki bozulmanın inhalen allerjenlerin submukozada antijen sunan hücreye erişiminin artması ve spazmojenik agonistlerin düz kaslara uzanmasını arttırması gibi varsayılan sonuçları olacaktır (165).

Çeşitli çalışmalar in vitro ve in vivo olarak hücreler arası adezyon bozulmasının etkisini modellemek için çalışmışlardır.

Atopik astımlı hastaların bronşial mukozal biopsilerinde havayolu epitelinde E-cadherin düzeyinin nonatopik nonastmatik olgulara göre daha düşük olduğu gösterilmiştir (167). AJ ve TJ moleküllerinin düşük ekspresyonu havayolu epitelinin astımlı hastalarda daha fragil olduğu fikrini desteklemektedir (167). Çalışmamızda EBC örneklerinde sE-cadherin düzeyi atopik astımlı çocuklarda nonatopik astımlı çocuklara göre daha yüksek saptandı Her ne kadar istatistiksel analiz anlamlı farklılık saptamasa da p değeri 0.08 ile anlama oldukça yakındı. Bu sonuçları değerlendirildiğinde allerjen maruziyetine bağlı olarak e-cadherinin hasarlı epitelde havayoluna dökülmesi atopik astımlı hastalarda nonatopik astımlı hastalara göre daha fazla olmaktadır. Biz çalışmamızda da, atopik hastalarda nonatopiklere göre, havayolu epiteli hasarına bağlı olarak epitelde e-cadherin düzeyinde azalmayı gösteren ve havayolunda epitel hasarının ağırlığıyla korelasyon gösteren EBC sE-cadherin düzeyleri daha yüksek bulduk. Saptamış olduğumuz bu veri,

proteaz özelliği olan allerjenlere karşı hassasiyeti olan atopik astımlı hastalardaki epitel hasarının daha fazla olduğunu desteklemektedir.

İnsan bronşial hücre kültürlerinde HDM tek başına e-cadherinin membran ekspresyonunu azaltmamış ancak TGF- $\beta$  kaplı epitelde HDM E-cadherin ve  $\beta$ -catenin ekspresyonunda bozulmayı indüklemekle kalmayıp  $\beta$ -catenin transkripsiyonel aktivasyonunda anlamlı artışla sonuçlanmıştır. Bu da astımlı hastalarda havayollarında artmış olarak bulunan TGF- $\beta$  nın HDM' e yanıt olarak EMT teşvik ederek epitel hücrelerinde kırılabilirliği arttırdığı ve yapısal değişiklikleri indüklediğini düşündürmektedir (168,172). Bizim çalışmamızda da epitel hasarı ve remodelling göstergelerinden olan MMP-9 ile e-cadherin düzeyleri arasında anlamlı korelasyon saptanması MMP-9 un bu süreçte rol oynadığını desteklemektedir. Bunun yanında HDM' in yapmış olduğu TJ hasarında epitel tamir merkerlerinden olan epidermal growth factor receptor (EGFR) ün anlamlı katkısının olduğu gösterilmiştir. HDM' a bağlı E-cadherinde bozulma EGFR' e bağlı PAR-2 aktivasyonu ile olmaktadır. Allerjen indüklediği PAR-2/EGFR aracılı sinyaller epitelyum direncini azaltır ve junctionların bozulmasını teşvik eder (173). Havayolu epitel hücre kültürlerinde de PAR-2 aktivasyonunun E-cadherin adezyonunu bozduğu gösterilmiştir (170). Astımlı hastaların bronş biopsilerinde epitel hücrelerinde ve epitel hücre kültürlerinde proinflamatuvar sitokinler olan IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  'ya yanıt olarak e-cadherinin azalmış olduğu, epitel hücre apoptozunun e-cadherinin ekspresyonunun azalmasına eşlik ettiği başka bir çalışmada gösterilmiştir. Bazı çalışmalarda ekzamatöz dermatiti, inflamatuvar barsak hastalığı ve fare astım modeli gibi çeşitli inflamatuvar hastalıkların seyri sırasında epitelde E-cadherin ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir. (174). Fareler üzerinde yapılan çalışmada tekrarlayan antijen yüklemesi ile E-cadherin kaybının bazı havayollarının tamamını kaplayacak kadar yaygın olduğu gösterilmiştir. Bu veri allerjen maruziyetinin sayısı ile e-cadherin arasındaki korelasyonu göstermektedir. Nötrofil toplanmasının güçlü bir uyarıcısı olan LPS uygulanan farelerde havayolu epitel hücrelerinde E-cadherin yerleşiminde büyük kayıp nötrofili ile korelasyon gösterilmiştir. Allerjen yüklemesinden sonra BAL' da Western Blot analizi kullanılarak E-cadherinin ekstraselüler domain epitoplari saptanmış ve bu artış lavajdaki nötrofil sayısı ile korelasyon göstermiştir. Bu bize allerjen yüklemesinden sonra E-cadherinin ekstraselüler domainin ayrıldığını ve lümen içine döküldüğünü göstermektedir. E-cadherin kaybının altında yatan mekanizma ne olursa olsun AJ bozulmasını takiben muhtemelen nötrofil göçü kolaylaşacaktır (166,175). Bizim çalışmamız da benzer şekilde inflamasyon



göstergelerinden olan IL-8 ile sE-cadherin arasında pozitif korelasyon olması atopik astımlılarda inflamasyonun daha şiddetli olduğu ve epitelyal frajilitenin, epitelyal dökülmenin atopik astımlılarda daha fazla olduğunu desteklemektedir.

Epitelyal bariyer disfonksiyonu üzerine yapılan çalışmalar daha çok hayvan deneyleri ve hücre kültürü çalışmalarına dayanmaktadır. Bu yönde yapılan çalışmalar daha çok astımlı hasta ve sağlıklı kontrol hasta gurubu üzerinden yapılmıştır. Etik nedenlerden dolayı çocuklar üzerinde invaziv çalışmalar yapmak oldukça zor olmaktadır. Biz çalışmamızda astımlı çocuklarda atopinin allerjik inflamasyon belirteçlerini gösterme açısından klasik invazif yöntemlere alternatif olarak noninvaziv bir yöntem olan EBC kullanılabileceğini gösterdik.

## 6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Atopik ve nonatopik astımlı hastaların alındığı bu çalışmanın sonucunda yoğunlaştırılmış nefes havasında MMP-9 düzeylerinin atopik astımlı çocuklarda nonatopik astımlı çocuklara göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Benzer şekilde yoğunlaştırılmış nefes havasında epitel bariyer AJ proteinlerinden olan E-cadherin düzeyleri de atopik astımlı çocuklarda nonatopik olanlara göre yüksek bulunmuştur. Ancak IL-5 ve IL-8 düzeylerinin atopik ve nonatopik astımlı çocuklardan elde edilen yoğunlaştırılmış hava örneklerinde fark göstermediği gözlenmiştir.

IL-5 düzeyinin atopik ve nonatopik hastaların yoğunlaştırılmış hava örneklerinde fark göstermemesinin nedeni sistemik duyarlanma olmaksızın tanımlanmamış harici antijenlerin, enfektif bir ajanın ya da bir endojen allerjenin atopinin hücrel mekanizmasını aktive ettiğini düşündürmektedir

IL-8 düzeyinin atopik ve nonatopik hastaların yoğunlaştırılmış hava örneklerinde fark göstermemesinin nedeni hastalarımızın tamamını intermitant, hafif ve orta persistan astımlı hastalar oluşturması, nötrofilik infalamsyonda ve onun üzerinde önemli etkisi olan IL-8 düzeylerinde gruplar arasında anlamlı fark olmaması IL-8 düzeyleri üzerinde hastalık şiddetinin daha önemli rol oynadığını desteklemektedir.

MMP-9 düzeyinin atopik astımı hastalar nonatopik astımlı hastalarla karşılaştırıldığında yoğunlaştırılmış hava örneklerinde daha yüksek seviyelerde olması proteaz özelliği olan allerjenlerin daha fazla doku hasarına, inflamatuvar sitokin salınımına ve remodellinge yol açtığını desteklemektedir.

MMP-9 düzeyi ile IL-8 arasınada anlamlı bir korelasyon saptanması atopik astımlı hastalarda nonatopik astımlı hastalara göre dolaylı olarak havayolu inflamasyonunun daha yoğun olduğunu buna bağlı olarak atopik astımlı hastalarda MMP-9 salınımının

inflamatuvar hücrelerden kaynaklandığını ve havayolu epitelin onarım mekanizması ile hücre migrasyonunda önemli rol aldığını desteklemektedir.

Çalışmamızda EBC örneklerinde sE-cadherin düzeyinin atopik astımlı çocuklarda nonatopik astımlı çocuklara göre daha yüksek saptanması her ne kadar istatistiksel analiz anlamlı farklılık saptanmasa da p değeri 0.08 ile anlama oldukça yakın olduğu göz önüne alınırsa allerjen maruziyetine bağlı olarak e-cadherinin hasarlı epitelden havayoluna dökülmesi atopik astımlı hastalarda nonatopik astımlı hastalara göre daha fazla olduğunu desteklemektedir.

IL-8 ile sE-cadherin arasında pozitif korelasyon olması atopik astımlılarda inflamasyonun daha şiddetli olduğu ve epitelyal frajilitenin, epitelyal dökülmenin atopik astımlılarda daha fazla olduğunu desteklemektedir.

Epitel hasarı ve remodelling göstergelerinden olan MMP-9 ile sE-cadherin düzeyleri arasında anlamlı korelasyon saptanması MMP-9 un bu süreçte rol oynadığını desteklemektedir.

Etik nedenlerden dolayı çocuklar üzerinde invaziv çalışmalar yapmak oldukça zor olmaktadır. Biz çalışmamızda astımlı çocuklarda atopinin allerjik inflamasyon belirteçlerini gösterme açısından klasik invazif yöntemlere alternatif olarak noninvaziv bir yöntem olan EBC kullanılabileceğini ve bundan sonra yapılacak olan çalışmalarda EBC' in kullanılabileceğini gösterdik.

## 7.KAYNAKLAR

1. Global strategy for asthma management and prevention, updated 2010 (2010). <http://www.ginasthma.com/Committees.asp?l1=7&l2=2>.
2. Türk Toraks Derneği Astım tanı ve tedavi rehberi. Türk Toraks Dergisi 2009; 10: Ek 1.
3. National Heart, Lung, and Blood Institute, National Asthma Education and Prevention Program. Expert Panel Report 3: guidelines for the diagnosis and management of asthma. Full report 2007. <http://www.nhlbi.nih.gov/guidelines/asthma/asthgdln.htm>.
4. Beyhun NE, Soyer OU, Kuyucu S, Sapan N, Altıntaş DU, Yüksel H, Anlar FY, Orhan F, Cevit O, Cokuğras H, Boz AB, Yazıcıoğlu M, Tanaç R, Sekerel BE. A multi-center survey of childhood asthma in Turkey--I: the cost and its determinants. *Pediatr Allergy Immunol.* 2009 Feb;20(1):72-80.
5. Almqvist C, Worm M, Leynaert B; working group of GA2LEN WP 2.5 Gender. Impact of gender on asthma in childhood and adolescence: a GA2LEN review. *Allergy.* 2008; 63(1): 47-57.
6. Clough S. Gender and the hygiene hypothesis. *Soc Sci Med.* 2011; 72(4): 486-93.
7. Martinez FD. Development of wheezing disorders and asthma in preschool children. *Pediatrics.* 2002; 109: 362–67.
8. Asher MI. Recent perspectives on global epidemiology of asthma in childhood. *Allergol Immunopathol.* 2010; 38(2): 83-7.
9. Masoli M, Fabian D, Holt S, Beasley R. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report. *Allergy.* 2004; 59: 469–78.
10. Turktas I, Selcuk ZT, Kalyoncu AF. Prevalence of asthma-associated symptoms in Turkish children. *Turk J Pediatr.* 2001; 43: 1-11.
11. Yuksel H, Dinc G, Sakar A, Yilmaz O, Yorgancioglu A, Celik P, Ozcan C. Prevalence and comorbidity of allergic eczema, rhinitis, and asthma in a city in western Turkey. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 2008; 18(1): 31-5.
12. Ones U, Akcay A, Tamay Z, Guler N, Zencir M. Rising trend asthma prevalence among Turkish schoolchildren (ISAAC phases I and III). *Allergy.* 2006; 61(12): 1448-53.

13. Yawn BP, Wollan P, Kurland M, Scanlon P. A longitudinal study of the prevalence of asthma in a community population of school-age children. *J Pediatr.* 2002; 140: 576-81.
14. Ober C. Perspectives on the past decade of asthma genetics. *J Allergy Clin Immunol.* 2005; 116: 274–78.
15. Holgate ST. Genetic and environmental interaction in allergy and asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 1999; 104: 1139–46.
16. Raby BA, Van Steen K, Celedón JC, Litonjua AA, Lange C, Weiss ST; CAMP Research Group. Paternal history of asthma and airway responsiveness in children with asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005; 172: 552-8.
17. London SJ. Gene-air pollution interactions in asthma. *Proc Am Thorac Soc.* 2007; 4: 217-20.
18. Wiesch DG, Meyers DA, Bleecker ER. Genetics of asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 1999; 104: 895–901.
19. Holloway JW, Beghe B, Holgate ST. The genetic basis of atopic asthma. *Clin Exp Allergy.* 1999; 29: 1023–32.
20. Litonjua AA, Carey VJ, Burge HA, Weiss ST, Gold DR. Parental history and the risk for childhood asthma. Does mother confer more risk than father? *Am J Respir Crit Care Med.* 1998; 158: 176-81.
21. Ober C, Hoffjan S. Asthma genetics 2006: the long and winding road to gene discovery. *Genes Immun.* 2006; 7: 95-100.
22. Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ.* 1989; 299: 1259–60.
23. Koppelman GH, Reijmerink NE, Colin Stine O, Howard TD, Whittaker PA, Meyers DA, Postma DS, Bleecker ER. Association of a promoter polymorphism of the CD14 gene and atopy. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001; 163: 965-9.
24. Van Eerdewegh P, Little RD, Dupuis J, Del Mastro RG, Falls K, Simon J, Torrey D, Pandit S, McKenny J, Braunschweiger K, Walsh A, Liu Z, Hayward B, Folz C, Manning SP, Bawa A, Saracino L, Thackston M, Benckekroun Y, Capparell N, Wang M, Adair R, Feng Y, Dubois J, FitzGerald MG, Huang H, Gibson R, Allen KM, Pedan A, Danzig MR, Umland SP, Egan RW, Cuss FM, Rorke S, Clough JB, Holloway JW, Holgate ST, Keith TP. Association of the ADAM 33 gene with asthma and bronchial hyperresponsiveness. *Nature.* 2002; 418: 426-30

25. Israel E, Chinchilli VM, Ford JG, Boushey HA, Cherniack R, Craig TJ, Deykin A, Fagan JK, Fahy JV, Fish J, Kraft M, Kunselman SJ, Lazarus SC, Lemanske RF Jr, Liggett SB, Martin RJ, Mitra N, Peters SP, Silverman E, Sorkness CA, Szeffler SJ, Wechsler ME, Weiss ST, Drazen JM; National Heart, Lung, and Blood Institute's Asthma Clinical Research Network. Use of regularly scheduled albuterol treatment in asthma: genotype-stratified, randomised, placebo-controlled cross-over trial. *Lancet*. 2004; 364: 1505-12.
26. Postma DS. Gender differences in asthma development and progression. *Gend Med*. 2007; 4 (Suppl. B): 133-46
27. Horwood LJ, Fergusson DM, Shannon FT. Social and familial factors in the development of early childhood asthma. *Pediatrics*. 1985; 75: 859-68.
28. de Marco R, Locatelli F, Sunyer J, Burney P. Differences in incidence of reported asthma related to age in men and women. A retrospective analysis of the data of the European Respiratory Health Survey. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000; 162(1): 68-74.
29. Mandhane PJ, Greene JM, Cowan JO, Taylor DR, Sears MR. Sex differences in factors associated with childhood- and adolescent- onset wheeze. *Am J respir Crit Care Med*. 2005; 172: 45-54.
30. Fiorino EK, Brooks LJ Obesity and respiratory diseases in childhood. *Clin Chest Med*. 2009; 30(3): 601-8.
31. Fiorino EK, Brooks LJ. Obesity and asthma: directions for research. Weiss ST, Shore S. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004; 169(8): 963-8
32. Pearce N, Pekkanen J, Beasley R. How much asthma is really attributable to atopy? *Thorax*. 1999; 54(3): 268-72.
33. Sears MR, Burrows B, Flannery EM, Herbison GP, Hewitt CJ, Holdaway MD. Relation between airway responsiveness and serum IgE in children with asthma and in apparently normal children. *N Engl J Med*. 1991; 325(15): 1067-71.
34. De Swert LFA. Risk factors for allergy. *Eur J Pediatr*. 1999; 158: 89-94
35. Illi S, von ME, Lau S, Nickel R, Grüber C, Niggemann B, Wahn UI. The natural course of atopic dermatitis from birth to age 7 years and the association with asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2004; 113: 925-31.

36. Castro-Rodriguez JA, Holberg CJ, Wright AL, Martinez FD. A clinical index to define risk of asthma in young children with recurrent wheezing. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000; 162: 1403–6.
37. Celedon JC, Milton DK, Ramsey CD, Litonjua AA, Ryan L, Platts-Mills TA, Gold DR. Exposure to dust mite allergen and endotoxin in early life and asthma and atopy in childhood. *J Allergy Clin Immunol.* 2007; 120: 144–9.
38. Tovey ER, Almqvist C, Li Q, Crisafulli D, Marks GB. Nonlinear relationship of mite allergen exposure to mite sensitization and asthma in a birth cohort. *J Allergy Clin Immunol.* 2008; 122 (118): 114-18.
39. Lau S, Illi S, Sommerfeld C, Niggemann B, Bergmann R, von Mutius E, Wahn U. Early exposure to house-dust mite and cat allergens and development of childhood asthma: a cohort study. Multicentre Allergy Study Group. *Lancet.* 2000; 356: 1392–97.
40. Chen CM, Tischer C, Schnappinger M, Heinrich J. The role of cats and dogs in asthma and allergy - a systematic review. *Int J Hyg Environ. Health.* 2010; 213 (1): 1–31.
41. Almqvist C, Egmar AC, van Hage-Hamsten M, Berglund N, Pershagen G, Nordvall SL, Svartengren M, Hedlin G, Wickman M. Heredity, pet ownership, and confounding control in a population-based birth cohort. *J Allergy Clin Immunol.* 2003; 111: 800-6.
42. Rosenstreich DL, Eggleston P, Kattan M, Baker D, Slavin RG, Gergen P, Mitchell H, McNiff-Mortimer K, Lynn H, Ownby D, Malveaux F. The role of cockroach allergy and exposure to cockroach allergen in causing morbidity among inner-city children with asthma. *N Engl J Med.* 1997; 336: 1356-63.
43. Braun-Fahrlander C. Environmental exposure to endotoxin and other microbial products and the decreased risk of childhood atopy: evaluating developments since April 2002. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2003; 3: 325-9.
44. Martinez FD. New insights into the natural history of asthma: Primary prevention on the horizon. Martinez FD. *J Allergy Clin Immunol.* 2011; 128(5): 939-45.
45. Sigurs N, Gustafsson PM, Bjarnason R, Lundberg F, Schmidt S, Sigurbergsson F, Kjellman B. Severe respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy and asthma and allergy at age 13. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005; 171(2): 137-41.

46. Romero JR, Stewart DL, Buysman EK, Fernandes AW, Jafri HS, Mahadevia PJ. Clin Ther. Serious early childhood wheezing after respiratory syncytial virus lower respiratory tract illness in preterm infants. 2010; 32(14): 2422-32.
47. Jackson DJ, Lemanske RF Jr. The role of respiratory virus infections in childhood asthma inception. Immunol Allergy Clin North Am. 2010; 30(4): 513-22.
48. Wu P, Dupont WD, Griffin MR, Carroll KN, Mitchel EF, Gebretsadik T, Hartert TV. Evidence of a causal role of winter virus infection during infancy in early childhood asthma. Am J Respir Crit Care Med. 2008; 178(11): 1123-9.
49. Eder W, Ege MJ, von Mutius E. The asthma epidemic. N Engl J Med. 2006; 355(21): 2226–35.
50. Pereira MU, Sly PD, Pitrez PM, Jones MH, Escouto D, Dias AC, Weiland SK, Stein RT. Nonatopic asthma is associated with helminth infections and bronchiolitis in poor children. Eur Respir J. 2007; 29(6): 1154-60.
51. Ownby DR, Johnson CC. Factors underlying the increasing incidence and prevalence of allergic diseases. In: Adkinson NF, Bochner BS, Busse WW, editors. Middleton's Allergy: Principles and Practice. 7th edition. China: Mosby Elsevier Publishers; 2009. p.769-79
52. Cheraghi M, Salvi S. Environmental tobacco smoke (ETS) and respiratory health in children. Eur J Pediatr. 2009; 168(8): 897-905.
53. Chilmonczyk BA, Salmun LM, Megathlin KN, Neveux LM, Palomaki GE, Knight GJ, Pulkkinen AJ, Haddow JE. Association between exposure to environmental tobacco smoke and exacerbations of asthma in children. N Engl J Med. 1993; 328: 1665-9.
54. Arshad SH. Does exposure to indoor allergens contribute to the development of asthma and allergy? Arshad SH. Curr Allergy Asthma Rep. 2010; 10(1): 49-55.
55. Zock JP, Vizcaya D, Le Moual N. Update on asthma and cleaners. Curr Opin Allergy Clin Immunol. 2010; 10: 114-20.
56. Tzivian L. Outdoor air pollution and asthma in children. Tzivian L. J Asthma. 2011; 48(5): 470-81.
57. Bloomberg GR. The influence of environment, as represented by diet and air pollution, upon incidence and prevalence of wheezing illnesses in young children. Curr Opin Allergy Clin Immunol. 2011; 11(2): 144-9.



58. Devereux G, Seaton A. Diet as a risk factor for atopy and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 1109-17.
59. Cohn L, Elias JA, Chupp GL. Asthma: mechanisms of disease persistence and progression. *Annu Rev Immunol*. 2004; 22: 789-815.
60. Shakoory B, Fitzgerald SM, Lee SA, Chi DS, Krishnaswamy G. The role of human mast cell-derived cytokines in eosinophil biology. *J Interferon Cytokine Res*. 2004; 24(5): 271-81.
61. Robinson DS. The role of the mast cell in asthma: induction of airway hyperresponsiveness by interaction with smooth muscle? *J Allergy Clin Immunol*. 2004; 114: 58-65.
62. Brightling CE, Bradding P, Symon FA, Holgate ST, Wardlaw AJ, Pavord ID. Mast-cell infiltration of airway smooth muscle in asthma. *N Engl J Med*. 2002; 346(22): 1699–705.
63. Willart M, Hammad H. Lung dendritic cell-epithelial cell crosstalk in Th2 responses to allergens. *Curr Opin Immunol*. 2011; 23(6): 772-7.
64. Kuipers H, Lambrecht BN. The interplay of dendritic cells, Th2 cells and regulatory T cells in asthma. *Curr Opin Immunol*. 2004; 6: 702–8.
65. Koya T, Kodama T, Takeda K, Miyahara N, Yang ES, Taube C, Joetham A, Park JW, Dakhama A, Gelfand EW. Importance of myeloid dendritic cells in persistent airway disease after repeated allergen exposure. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006; 173(1): 42-55.
66. Peters- Golden M. The alveolar macrophage: the forgotten cell in asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2004; 31: 3-7.
67. Holgate ST. Pathogenesis of asthma. *Clin Exp Allergy*. 2008; 38(6): 872-97.
68. Moqbel R, Lacy P, Adamko DJ, Odemuyiwa SO. Biology of Eosinophils. In: Adkinson NF, Bochner BS, Busse WW, editors. *Middleton's Allergy: Principles and Practice*. 7th edition. China: Mosby Elsevier Publishers; 2009. p. 295-310.
69. Wenzel S. Mechanisms of severe asthma. *Clin Exp Allergy*. 2003; 33: 1622–8.
70. Hamid Q, Tulic M. Immunobiology of asthma. *Annu Rev Physiol*. 2009; 71: 489-507.
71. Wisniewski JA, Borish L. Novel cytokines and cytokine-producing T cells in allergic disorders. *Allergy Asthma Proc*. 2011; 32(2): 83-94.

72. Oh CK, Geba GP, Molfino N. Investigational therapeutics targeting the IL-4/IL-13/STAT-6 pathway for the treatment of asthma. *Eur Respir Rev.* 2010; 19(115): 46-54
73. Foley S, Hamid Q. Immunopathology of Allergic Airway Inflammation. In: Adkinson NF, Bochner BS, Busse WW, editors. *Middleton's Allergy: Principles and Practice.* 7th edition. China: Mosby Elsevier Publishers; 2009. p. 473-94.
74. Wills-Karp M. Interleukin-13 in asthma pathogenesis. *Immunol Rev.* 2004 ; 202: 175-90.
75. Shimbara A, Christodoulopoulos P, Soussi-Gounni A, Olivenstein R, Nakamura Y, Levitt RC, Nicolaides NC, Holroyd KJ, Tsicopoulos A, Lafitte JJ, Wallaert B, Hamid QA. L-9 and its receptor in allergic and nonallergic lung disease: increased expression in asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2000; 105: 108-15.
76. Gaffen SL. Structure and signalling in the IL-17 receptor family. *Nat Rev Immunol.* 2009; 9(8): 556-67.
77. Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, Weiner HL, Kuchroo VK. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature.* 2006; 441(7090): 235-8.
78. Besnard AG, Sabat R, Dumoutier L, Renauld JC, Willart M, Lambrecht B, Teixeira MM, Charron S, Fick L, Erard F, Warszawska K, Wolk K, Quesniaux V, Ryffel B, Togbe D. Dual Role of IL-22 in allergic airway inflammation and its cross-talk with IL-17A. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011; 183(9): 1153-63.
79. Barlow JL, McKenzie AN. IL-25: a key requirement for the regulation of type-2 immunity. *Biofactors.* 2009; 35(2): 178-82.
80. Lei Z, Liu G, Huang Q, Lv M, Zu R, Zhang GM, Feng ZH, Huang B. SCF and IL-31 rather than IL-17 and BAFF are potential indicators in patients with allergic asthma. *Allergy.* 2008; 63(3): 327-32.
81. Allakhverdi Z, Comeau MR, Smith DE, Toy D, Endam LM, Desrosiers M, Liu YJ, Howie KJ, Denburg JA, Gauvreau GM, Delespesse G. CD34+ hemopoietic progenitor cells are potent effectors of allergic inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2009; 123(2): 472-8.
82. Charo IF, Ransohoff RM. The many roles of chemokines and chemokine receptors in inflammation. *N Engl J Med.* 2006; 354(6): 610-21.

83. Simpson JL, Baines KJ, Gibson PG. Biology of Neutrophils In: Adkinson NF, Bochner BS, Busse WW, editors. *Middleton's Allergy: Principles and Practice*. 7th edition. China: Mosby Elsevier Publishers; 2009. p. 283-94.
84. Mukaida N. Pathophysiological roles of interleukin-8/CXCL8 in pulmonary diseases. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2003; 284(4): 566-77
85. Pignatti P, Moscato G, Casarini S, Delmastro M, Poppa M, Brunetti G, Pisati P, Balbi B. Downmodulation of CXCL8/IL-8 receptors on neutrophils after recruitment in the airways. *J Allergy Clin Immunol*. 2005; 115(1): 88-94.
86. Capra V, Thompson MD, Sala A, Cole DE, Folco G, Rovati GE. Cysteinyl-leukotrienes and their receptors in asthma and other inflammatory diseases: critical update and emerging trends. *Med Res Rev*. 2007; 27(4):469-527
87. O'Mahony L, Akdis M, Akdis CA. Regulation of the immune response and inflammation by histamine and histamine receptors. *J Allergy Clin Immunol*. 2011; 128(6): 1153-62.
88. Sugiura H, Ichinose M. Nitrate stress in inflammatory lung diseases. *Nitric Oxide*. 2011; 25(2):138-44.
89. Barnes PJ, Chung KF, Page CP. Inflammatory mediators of asthma: an update. *Pharmacol Rev*. 1998; 50: 515–96.
90. Buc M, Dzurilla M, Vrlik M, Bucova M. Immunopathogenesis of bronchial asthma. *Arch Immunol Ther Exp*. 2009; 57(5): 331-44.
91. Vermeer PD, Denker J, Estin M, Moninger TO, Keshavjee S, Karp P, Kline JN, Zabner J. MMP9 modulates tight junction integrity and cell viability in human airway epithelia. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2009; 296(5): 751-62.
92. Role of matrix metalloproteinases in asthma. Kelly EA, Jarjour NN. *Curr Opin Pulm Med*. 2003; 9(1): 28-33.59.
93. Proud D, Leigh R. Epithelial cells and airway diseases. *Immunol Rev*. 2011; 242(1): 186-204.
94. Nawijn MC, Hackett TL, Postma DS, van Oosterhout AJ, Heijink IH. E-cadherin: gatekeeper of airway mucosa and allergic sensitization. *Trends Immunol*. 2011; 32(6): 248-55
95. Tam A, Wadsworth S, Dorscheid D, Man SF, Sin DD. The airway epithelium: more than just a structural barrier. *Ther Adv Respir Dis*. 2011; 5(4): 255-73

96. Swindle EJ, Collins JE, Davies DE. Breakdown in epithelial barrier function in patients with asthma: identification of novel therapeutic approaches. *J Allergy Clin Immunol.* 2009; 124(1): 23-34.
97. Niessen CM. Tight junctions/adherens junctions: basic structure and function. *J Invest Dermatol.* 2007; 127(11): 2525-32.
98. Anderson JM, Van Itallie CM. Physiology and function of the tight junction. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2009; 1(2): a002584
99. Effros RM, Nagaraj H. Asthma: new developments concerning immune mechanisms, diagnosis and treatment. *Curr Opin Pulm Med.* 2007; 13(1): 37-43.
100. Holgate ST. Innate and adaptive immune responses in asthma. *Nat Med.* 2012; 18(5): 673-83. .
101. Palomares O, Yaman G, Azkur AK, Akkoc T, Akdis M, Akdis CA. Role of Treg in immune regulation of allergic diseases. *Eur J Immunol.* 2010; 40(5): 1232-40.
102. Orihara K, Dil N, Anaparti V, Moqbel R. What's new in asthma pathophysiology and immunopathology? *Expert Rev Respir Med.* 2010; 4(5): 605-29.
103. Hammad H, Lambrecht BN. Dendritic cells and airway epithelial cells at the interface between innate and adaptive immune responses. *Allergy.* 2011; 66(5): 579-87.
104. Perros F, Hoogsteden H.C, Coyle AJ, Lambrecht BN, Hammad H. Blockade of CCR4 in a humanized model of asthma reveals a critical role for DC-derived CCL17 and CCL22 in attracting TH2 cells and inducing airway inflammation. *Allergy.* 2009; 64: 995–1002.
105. Akdis CA, Akdis M. Mechanisms and treatment of allergic disease in the big picture of regulatory T cells. *J Allergy Clin Immunol.* 2009; 123(4): 735-46.
106. Soyer OU, Akdis M, Akdis CA. Mechanisms of subcutaneous allergen immunotherapy. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2011; 31(2): 175-90.
107. Kearley J, Erjefalt JS, Andersson C, Benjamin E, Jones CP, Robichaud A, Pegorier S, Brewah Y, Burwell TJ, Bjermer L, Kiener PA, Kolbeck R, Lloyd CM, Coyle AJ, Humbles AA. IL-9 governs allergen-induced mast cell numbers in the lung and chronic remodeling of the airways. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011; 183: 865–75.
108. Fahy JV. Eosinophilic and neutrophilic inflammation in asthma: insights from clinical studies. *Proc Am Thorac Soc.* 2009; 6(3): 256-9.

109. Bousquet J, Chanez P, Lacoste JY, Barneon G, Ghavanian N, Enander I, Venge P, Ahlstedt S, Simony-Lafontaine J, Godard P, Michel FB. Eosinophilic inflammation in asthma. *N Engl J Med*. 1990; 323: 1033–39.
110. Miranda C, Busacker A, Balzar S, Trudeau J, Wenzel SE. Distinguishing severe asthma phenotypes: Role of age at onset and eosinophilic inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2004; 113: 101-8.
111. Leckie MJ, ten Brinke A, Khan J, Diamant Z, O'Connor BJ, Walls CM, Mathur AK, Cowley HC, Chung KF, Djukanovic R, Hansel TT, Holgate ST, Sterk PJ, Barnes PJ. Effects of an interleukin-5 blocking monoclonal antibody on eosinophils, airway hyper-responsiveness, and the late asthmatic response. *Lancet*. 2000; 356: 2144-48.
112. Haldar P, Pavord ID. Noneosinophilic asthma: A distinct clinical and pathologic phenotype. *J Allergy Clin Immunol*. 2007; 119: 1043-52.
113. Proud D. Biology of Epithelial Cells. In: Adkinson NF, Bochner BS, Busse WW, editors. *Middleton's Allergy: Principles and Practice*. 7th edition. China: Mosby Elsevier Publishers; 2009. p. 373-86.
114. Tang ML, Wilson JW, Stewart AG, Royce SG. Airway remodelling in asthma: current understanding and implications for future therapies. *Pharmacol Ther*. 2006; 112: 474-88
115. Zimmerman P. Discussion Session III: Airway wall remodeling. *Clin Exper Allergy*. 2001; 1: 123-7.
116. Holgate ST. The sentinel role of the airway epithelium in asthma pathogenesis. *Immunol Rev*. 2011; 242(1): 205-19.
117. Demayo F, Minoo P, Plopper CG, Schuger L, Shannon J, Torday JS. Mesenchymal-epithelial interactions in lung development and repair: are modeling and remodeling the same process? *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2002; 283: 510-17.
118. Brewster CE, Howarth PH, Djukanovic R, Wilson J, Holgate ST, Roche WR. Myofibroblasts and subepithelial fibrosis in bronchial asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 1990; 3: 507-11.
119. Tschumperlin DJ, Drazen JM. Chronic effects of mechanical force on airways. *Annu Rev Physiol*. 2006; 68: 563-83.

120. Holgate ST, Arshad HS, Roberts GC, Howarth PH, Thurner P, Davies DE. A new look at the pathogenesis of asthma. *Clin Sci*. 2009; 118(7): 439-50.
121. Erlewyn-Lajeunesse MD, Hunt LP, Pohunek P, Dobson SJ, Kochhar P, Warner JA, Warner JO. Bronchoalveolar lavage MMP-9 and TIMP-1 in preschool wheezers and their relationship to persistent wheeze. *Pediatr Res*. 2008; 64(2): 194-9.
122. Castile R. Novel techniques for assessing infant and pediatric lung function and structure. *Pediatr Infect Dis J*. 2004; 23(11 Suppl): 246-53.
123. Guilbert T, Moss MH, Lemanske Jr RF. Approach to infants and children with asthma. In: Adkinson NFJR, Bochner BS, Busse WW, Holgate ST, Lemanske RF, Simons FER., eds. *Middleton's Allergy. Principles and Practise*. 7th ed. Philadelphia. Elsevier. 2009. p.1319-43.
124. Bacharier LB, Boner A, Carlsen KH, Eigenmann PA, Frischer T, Götz M, Helms PJ, Hunt J, Liu A, Papadopoulos N, Platts-Mills T, Pohunek P, Simons FE, Valovirta E, Wahn U, Wildhaber J. Diagnosis and treatment of asthma in childhood: a PRACTALL consensus report. *European Pediatric Asthma Group Allergy*. 2008; 63: 5-34.
125. Odabaşı K. Alerjik hastalıkların tanısında deri testleri. In: Kalyoncu AF, editors. *Allerjik Hastalıklarda Yeni Ufuklar: Çocuk ve Erişkinde Astım ve Allerji Hastalıkları*. 71. Baskı. Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri; 2010. p.413-20.
126. Carr WW. Improvements in skin-testing technique. *Allergy and Asthma Proceedings* 200; 27: 100-3.
127. Smith AD, Cowan JO, Brassett KP, Herbison GP, Taylor DR. Use of exhaled nitric oxide measurements to guide treatment in chronic asthma. *N Engl J Med*. 2005; 352: 2163-73.
128. Kharitonov SA, Barnes PJ. Exhaled biomarkers. *Chest*. 2006; 130(5): 1541-6.
129. Simpson BM, Custovic A, Simpson A, Hallam CL, Walsh D, Marolia H, Campbell J, Woodcock A. NAC Manchester Asthma and Allergy Study (NACMAAS): risk factors for asthma and allergic disorders in adults. *Clin Exp Allergy*. 2001; 31(3): 391-9.
130. Clinical and Technical Factors Affecting Ph and Other Biomarkers in Exhaled Breath Condensate. *Pediatric Pulmonology*. 2006: 41; 87-94.
131. Kazani S, Israel E. Exhaled breath condensates in asthma: diagnostic and therapeutic implications. *J Breath Res*. 2010; 4(4): 047001.

132. Horváth I, Hunt J, Barnes PJ, Alving K, Antczak A, Baraldi E, Becher G, van Beurden WJ, Corradi M, Dekhuijzen R, Dweik RA, Dwyer T, Effros R, Erzurum S, Gaston B, Gessner C, Greening A, Ho LP, Hohlfeld J, Jöbssis Q, Laskowski D, Loukides S, Marlin D, Montuschi P, Olin AC, Redington AE, Reinhold P, van Rensen EL, Rubinstein I, Silkoff P, Toren K, Vass G, Vogelberg C, Wirtz H; ATS/ERS Task Force on Exhaled Breath Condensate. Exhaled breath condensate: methodological recommendations and unresolved questions. *Eur Respir J.* 2005; 26: 523–48.
133. Sergei A, Kharitonov and Peter J Barnes: Exhaled markers of inflammation. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2001;1;217-224.
134. Profita M, La Grutta S, Carpagnano E, Riccobono L, Di Giorgi R, Bonanno A, Pace E, Bonsignore G, Bousquet J, Vignola AM, Gjomarkaj M. Noninvasive methods for the detection of upper and lower airway inflammation in atopic children. *J Allergy Clin Immunol.* 2006; 118:1068-1074.
135. Yüksel H. Spesifik Allerjen İmmünoterapide Endikasyonlar ve Kontrendikasyonlar *Turkiye Klinikleri J Int Med Sci.* 2007, 3(41): 20-3.
136. Nair SJ, Daigle KL, DeCuir P, Lapin CD, Schramm CM. The influence of pulmonary function testing on the management of asthma in children. *J Pediatr.* 2005; 147: 797–801.
137. Heinzerling L, Frew AJ, Bindslev-Jensen C, Bonini S, Bousquet J, Bresciani M, et al. Standard skin prick testing and sensitization to inhalant allergens across Europe—a survey from the GALEN network. *Allergy.* 2005; 60:1287-300.
138. Bloemen K, Van Den Heuvel R, Govarts E, Hooyberghs J, Nelen V, Witters E, Desager K, Schoeters G. A new approach to study exhaled proteins as potential biomarkers for asthma. *Clin Exp Allergy.* 2011; 41(3): 346-56.
139. Kim CK, Koh YY, Callaway Z. The validity of induced sputum and bronchoalveolar lavage in childhood asthma. *J Asthma.* 2009 Mar;46(2):105-12.
140. van de Kant KD, Jansen MA, Klaassen EM, van der Grinten CP, Rijkers GT, Muris JW, van Schayck OC, Jöbssis Q, Dompeling E. Elevated inflammatory markers at preschool age precede persistent wheezing at school age. *Pediatr Allergy Immunol.* 2012; 23(3): 259-64.

141. Zetterquist W, Marteus H, Hedlin G, Alving K. Increased exhaled nitrite in children with allergic asthma is not related to nitric oxide formation. *Clin Respir J*. 2008; 2(3): 166-74.
142. Rackemann FM. A working classification of asthma. *Am J Med*. 1947; 3(5): 601-6
143. Humbert M, Menz G, Ying S, Corrigan CJ, Robinson DS, Durham SR, Kay AB. The immunopathology of extrinsic (atopic) and intrinsic (non-atopic) asthma: more similarities than differences. *Immunol Today*. 1999; 20(11): 528-33.
144. Bhakta NR, Woodruff PG. Human asthma phenotypes: from the clinic, to cytokines, and back again. *Immunol Rev*. 2011; 242(1): 220-32.
145. Drews AC, Pizzichini MM, Pizzichini E, Pereira MU, Pitrez PM, Jones MH, Sly PD, Stein RT. Neutrophilic airway inflammation is a main feature of induced sputum in nonatopic asthmatic children. *Allergy*. 2009; 64: 1597-1601.
146. Barnes PJ. Intrinsic asthma: not so different from allergic asthma but driven by superantigens? *Clin Exp Allergy*. 2009; 39(8): 1145-51.
147. Tang C, Rolland JM, Ward C, Quan B, Walters EH. IL-5 production by bronchoalveolar lavage and peripheral blood mononuclear cells in asthma and atopy. *Eur Respir J*. 1997; 10(3): 624-32
148. Humbert M, Durham SR, Ying S, Kimmitt P, Barkans J, Assoufi B, Pfister R, Menz G, Robinson DS, Kay AB, Corrigan CJ. IL-4 and IL-5 mRNA and protein in bronchial biopsies from patients with atopic and nonatopic asthma: evidence against "intrinsic" asthma being a distinct immunopathologic entity. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996; 154(5): 1497-504
149. Aujla SJ, Ross KR, Chmiel JF, Holguin F. Airway molecular phenotypes in pediatric asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2011; 11(2): 122-6.
150. Böttcher MF, Bjurström J, Mai XM, Nilsson L, Jenmalm MC. Allergen-induced cytokine secretion in atopic and non-atopic asthmatic children. *Pediatr Allergy Immunol*. 2003; 14(5): 345-50.
151. Kim CK, Choi J, Callaway Z, Iijima K, Volcheck G, Kita H. Increases in airway eosinophilia and a Th1 cytokine during the chronic asymptomatic phase of asthma. *Respir Med*. 2010; 104(10): 1436-43.
152. Amin K, Lúdvíksdóttir D, Janson C, Nettelbladt O, Björnsson E, Roomans GM, Boman G, Sevés L, Venge P. Inflammation and structural changes in the airways



- of patients with atopic and nonatopic asthma. BHR Group. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000; 162(6): 2295-301.
153. Rosias PP, Robroeks CM, van de Kant KD, Rijkers GT, Zimmermann LJ, van Schayck CP, Heynens JW, Jöbsis Q, Dompeling E. Feasibility of a new method to collect exhaled breath condensate in pre-schoolchildren. *Pediatr Allergy Immunol.* 2010; 21(1 Pt 2): e235-44.
154. Hauk PJ, Krawiec M, Murphy J, Boguniewicz J, Schiltz A, Goleva E, Liu AH, Leung DY. Neutrophilic airway inflammation and association with bacterial lipopolysaccharide in children with asthma and wheezing. *Pediatr Pulmonol.* 2008; 43(9): 916-23.
155. Macedo P, Hew M, Torrego A, Jouneau S, Oates T, Durham A, Chung KF. Inflammatory biomarkers in airways of patients with severe asthma compared with non-severe asthma. *Clin Exp Allergy.* 2009; 39(11): 1668-76.
156. Doherty GM, Kamath SV, de Courcey F, Christie SN, Chisakuta A, Lyons JD, Heaney LG, Ennis M, Shields MD. Children with stable asthma have reduced airway matrix metalloproteinase-9 and matrix metalloproteinase-9/tissue inhibitor of metalloproteinase-1 ratio. *Clin Exp Allergy.* 2005; 35(9): 1168-74.
157. Simpson JL, Scott RJ, Boyle MJ, Gibson PG. Differential proteolytic enzyme activity in eosinophilic and neutrophilic asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005; 172(5): 559-65.
158. Van den Steen PE, Proost P, Wuyts A, Van Damme J, Opdenakker G. Neutrophil gelatinase B potentiates interleukin-8 tenfold by aminoterminal processing, whereas it degrades CTAP-III, PF-4, and GRO- $\alpha$  and leaves RANTES and MCP-2 intact. *Blood.* 2000; 96: 2673-81.
159. Lim DH, Cho JY, Miller M, McElwain K, McElwain S, Broide DH. Reduced peribronchial fibrosis in allergen-challenged MMP-9-deficient mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2006; 291: 265-271.
160. Kelly EA, Busse WW, Jarjour NN. Increased matrix metalloproteinase-9 in the airway after allergen challenge. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000; 162: 1157-61.
161. Mattos W, Lim S, Russell R, Jatakanon A, Chung KF, Barnes PJ. Matrix metalloproteinase-9 expression in asthma: effect of asthma severity, allergen challenge, and inhaled corticosteroids. *Chest.* 2002; 122(5): 1543-52.

- 162.Doğu F, Yıldırım A, Güloğlu D, Çipe FE, Yüksek M, Babacan E, İkincioğulları A. Serum Transforming Growth Factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), Matrix Metalloproteinase-2 (MMP-2), Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) and Tissue Inhibitors of Metalloproteinase (TIMP-1) Levels in Childhood Asthma. *Turk J Med Sci.* 2008; 38 (5): 415-9.
- 163.Çalikoğlu M, Ünlü A, Tamer L, Özgür E. Kronik obstrüktif akciğer hastaları ve astımlılarda indükte balgamda MMP-9 ve TIMP-1 düzeyleri. *Tüberküloz ve Toraks Dergisi.* 2006; 54(2): 114-121.
- 164.Xiao C, Puddicombe SM, Field S, Haywood J, Broughton-Head V, Puxeddu I, Haitchi HM, Vernon-Wilson E, Sammut D, Bedke N, Cremin C, Sones J, Djukanović R, Howarth PH, Collins JE, Holgate ST, Monk P, Davies DE. Defective epithelial barrier function in asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2011; 128(3): 549-56.
- 165.Knight DA, Stick SM, Hackett TL. Defective function at the epithelial junction: a novel therapeutic frontier in asthma? *J Allergy Clin Immunol.* 2011; 128(3): 557-8.
- 166.Goto Y, Uchida Y, Nomura A, Sakamoto T, Ishii Y, Morishima Y, Masuyama K, Sekizawa K. Dislocation of E-cadherin in the airway epithelium during an antigen-induced asthmatic response. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2000; 23(6): 712-8.
- 167.de Boer WI, Sharma HS, Baelemans SM, Hoogsteden HC, Lambrecht BN, Braunstahl GJ. Altered expression of epithelial junctional proteins in atopic asthma: possible role in inflammation. *Can J Physiol Pharmacol.* 2008; 86(3): 105-12.
- 168.Heijink IH, Postma DS, Noordhoek JA, Broekema M, Kapus A. House dust mite-promoted epithelial-to-mesenchymal transition in human bronchial epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2010; 42(1): 69-79.
- 169.Vinhas R, Cortes L, Cardoso I, Mendes VM, Manadas B, Todo-Bom A, Pires E, Verissimo P. Pollen proteases compromise the airway epithelial barrier through degradation of transmembran eadhesion proteins and lung bioactive peptides. *Allergy.* 2011; 66(8): 1088-98.
- 170.Winter MC, Shasby SS, Ries DR, Shasby DM. PAR2 activation interrupts E-cadherin adhesion and compromises the airway epithelial barrier: protective effect of beta-agonists. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2006; 291(4): 628-35.
- 171.Gershwin LJ. Effects of allergenic extracts on airway epithelium. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2007; 7(5): 357-62

172. Winton HL, Wan H, Cannell MB, Thompson PJ, Garrod DR, Stewart GA, Robinson C. Class specific inhibition of house dust mite proteinases which cleave cell adhesion, induce cell death and which increase the permeability of lung epithelium. *Br J Pharmacol.* 1998; 124(6): 1048-59.
173. Heijink IH, van Oosterhout A, Kapus A. Epidermal growth factor receptor signalling contributes to house dust mite-induced epithelial barrier dysfunction. *Eur Respir J.* 2010; 36(5): 1016-26.
174. Trautmann A, Kruger K, Akdis M, Muller-Wening D, Akkaya A, Brocker EB, Blaser K, Akdis CA. Apoptosis and loss of adhesion of bronchial epithelial cells in asthma. *Int Arch Allergy Immunol.* 2005; 138(2): 142-50.
175. Evans SM, Blyth DI, Wong T, Sanjar S, West MR. Decreased distribution of lung epithelial junction proteins after intratracheal antigen or lipopolysaccharide challenge: correlation with neutrophil influx and levels of BALF sE-cadherin. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2002; 27(4): 446-54.