

**T.C.**  
**CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**  
**Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı**  
**Pediyatrik Alerji Bilim Dalı ve Solunum Birimi**

**ALLERJİK RİNİT VE ASTİM BİRLİKTELİĞİNDE NAZAL MUKOZAL  
YANITTA DENDRİTİK HÜCRENİN ROLÜ**

**PEDİYATRİK İMMUNOLOJİ VE ALERJİ YAN DAL UZMANLIK TEZİ**  
**Uzman Dr. Özge YILMAZ**

**TEZ DANIŞMANI**  
**Prof. Dr. Hasan YÜKSEL**

**Manisa - 2010**

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	IV
KISALTMALAR.....	V
TABLO VE ŞEKİL DİZİNİ.....	VII
I.GİRİŞ.....	1
II. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Allerjik Rinit.....	2
2.1.1. Tanım .....	2
2.1.2. Epidemiyoloji.....	2
2.1.3. Patogenez.....	2
2.1.4. Klinik.....	3
2.1.5. Tanı .....	4
2.1.6. Tedavi.....	4
2.2. Astım.....	5
2.1.1. Tanım.....	5
2.1.2. Epidemiyoloji.....	5
2.1.3. Patogenez.....	6
2.1.4. Klinik.....	7
2.1.5. Tanı.....	7
2.1.6. Tedavi.....	8
2.3. Birleşik Hava Yolu Hipotezi.....	9
2.4. Dendritik Hücre.....	10
2.4.1. Alt Tipler.....	11
2.4.2. Çevreden Örnek Alımı.....	13
2.4.3. Aktivasyonda Rol Alan Reseptör ve Moleküller.....	15
2.4.4. Diğer Stres Sinyalleri Tarafından Fonksiyonların Modülasyonu.....	17
2.4.5. Matürasyon Süreci.....	17
2.4.6. Diğer Doğal İmmün Sistem Hücreleriyle İlişkisi.....	18
2.4.7. Adaptif İmmün Yanıt Hücreleriyle İlişkisi ve Antijen Sunumu.....	19
2.4.8. Allerji ve Astımda Rolü.....	21
III. GEREÇLER VE YÖNTEM.....	25
IV. BULGULAR.....	29

V. TARTIŞMA.....	37
VI. SONUÇ.....	42
VII. ÖZET.....	43
VIII. İNGİLİZCE ÖZET.....	44
IX. KAYNAKLAR.....	45

## ÖNSÖZ

Pediyatrik Immunoloji ve Allerji Bilim Dalı yanında çocuk sağlığı ve hastalıkları Anabilim Dalı adına bildiğim her Őeyi bana öğreten, araştırma yapmak sanatı ile beni tanıştıran, bir çocuğa bakarken annesinin ızdırabını duymayı öğreten, hep başvurulabilecek bir aile bireyi sıcaklığı hissettiren, insan olmaya ve insanca yaşamaya dair felsefesi yüreginin en derinlerinde yer alan sayın hocam ve yol göstericim Prof. Dr. Hasan Yüksel'e

Yan dal eğitim sürecimin uzun dönemlerini paylaştığım, dostlukları ile varlıklarını hep yanımda hissettiğim sayın Doç. Dr. Ayhan Söğüt, Uz. Dr. Ahmet Türkeli, Uz.Dr. Serhat Güler'e

Nazal lavaj örneklerinde sitokin çalışmasını yapan sayın Doç.Dr. Ece Onur ve asistanı Dr. Soner Erdin'e,

Poliklinik çalışmaları sırasında, mesai anlayışının çok üzerinde hiçbir yardımını esirgemeyen teknisyen Özgür Kaçmaz'a

Her zaman, her yerde ve her koşulda öğrenimim, eğitimim ve yaşamım için çok büyük özverilerde bulunan sevgili annem ve babama yürekten teşekkür ederim.

**Dr. Özge Yılmaz**

**Manisa-2010**

## KISALTMALAR

AR: Allerjik rinit

BAFF: TNF ailesine ait B hücre aktive eden faktör

CCR: CC kemokin reseptörü

CLR: C tipi lektin reseptörler type lectin reseptörleri

DAMP: hasar-ilişkili moleküler patern moleküller

DH: Dendritik hücre

FcR: İmmunglobulin Fc parçası için reseptör

FEV-1: Birinci saniyedeki zorlu ekspiratuar volüm

FVC: Zorlu ekspiratuar vital kapasite

GM-CSF: Granülosit monosit koloni stimülan faktör

HMGB1: Yüksek mobilite grubu box-1 proteini

HSP: Heat shock protein

ICOSL: indüklenebilir kostimülatuar ligand

IFN $\gamma$  : İnterferon  $\gamma$

IgE: İmmunglobulin E

ISAAC: The international study of asthma and allergies in childhood

IL: İnterlökin

İntDH: İnterstisyel Dendritik hücre

LH: Langerhans hücre

mDH: Myeloid dendritik hücre

NF-KB: Nükleer faktör-KB

NK: Doğal öldürücü hücreler

NLR: NOD benzeri reseptörler

NOD: Nükleotid oligomerizasyon domain

PAMP: Patojenler ile ilişkili moleküler patern

pDH: plazmositoid dendritik hücre

PD-L1: programlanmış ölüm ligandı 1

Prostaglandin E2: PgE2

PRR: Patern tanıyan reseptörler

SR: Scavenger reseptör

TCR: T hücre reseptörü

TGF-  $\beta$ : Transforming growth faktör- $\beta$

Th1: T helper 1

Th2: T helper 2

TLR: Toll like reseptörler

TNF- $\alpha$ : Tümör nekrotizan faktör- $\alpha$

Treg: Regülatuar T hücre

TSLP: Timik stromal lenfopoetin

## ÖZET

“Birleşik hava yolu” kavramının ortaya çıkışında lokal ve sistemik bir çok farklı mekanizma öne sürülmüştür. Hem astım hem de allerjik rinitin (AR) ortaya çıkışında ortak allerjik tetikleyiciler rol oynar. Bu antijenleri sunmakla görevli olan dendritik hücreler (DH) Th2 polarizasyonunu tetikler. Doğal immün sistemdeki antijen sunma etkileri yanında DH’ler salgıladıkları sitokinler aracılığı ile yangının ortaya çıktığı bölgeye göç eden efektör hücreleri etkileyerek yangının tipinin belirlenmesinde rol oynarlar.

Bu çalışmanın amacı, sadece astımı, sadece AR’i ve astımla birlikte AR’i olan çocuklarda nazal lavaj sıvısında interlökin (IL)-1, IL-4, IL-6,IL-10, IL-13, IL25, İnterferon  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) ve transforming growth faktör- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) düzeylerinin ölçülmesi ve allerjisi olmayan çocuklarla karşılaştırılması yolu ile “birleşik hava yolu” kavramı immünpatogenezinde DH fonksiyonlarının belirlenmesidir.

Çalışmaya 5-17 yaşları arasında olan 80 çocuk alındı ve nonatopik kontrol, atopik astım, AR ve astımla AR birlikteliği olan grup olmak üzere dört grupta incelendi. Çalışmaya alınan tüm hastaların yaş ve cinsiyetleri klinik bulgularının ağırlığı ve bu belirtilerin başlangıç yaşı kaydedildi. Tüm çocuklara nazal lavaj uygulandı ve nazal lavaj örneklerinde IL-1, IL-4, IL-6, IL-10, IL-13, IL-25, IFN $\gamma$ , ve TGF- $\beta$  düzeyleri ölçüldü.

Çalışmaya alınan çocukların (39 erkek, 41 kız) yaş ortalaması  $10.0 \pm 2.9$  yıldır. Gruplar arasında IL-1 düzeyleri anlamlı farklılık göstermedi ( $p=0.379$ ). Benzer şekilde IL-6, IL-10 ve IL-13 düzeyleri de gruplar arasında benzer bulundu (sırası ile  $p=0.748$ ,  $p=0.126$ ,  $p=0.249$ ). Ancak IL-25 düzeyi, astım grubunda en düşükken kontrol grubunda en yüksek düzeylerde olduğu görüldü ( $p=0.028$ ). Bunun tersine IFN $\gamma$  düzeyleri astım grubunda  $27.8 \pm 16.4$  pg/mL en yüksek saptanırken, astımla AR birlikteliği olan grupta en düşük olduğu görüldü ( $p=0.009$ ). TGF $\beta$  düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık göstermedi

Çalışmamızda saptanmış olan IL-25 sonuçları, DH’lerin bu sitokin reseptörlerini arttırmak aracılığı ile Th2 yanıtını uyarmalarının kliniği önemli ölçüde etkilediğini düşündürmektedir. IL-25’e verilen yanıt allerjik yangının belirleyicisi olabilir ve allerjik olmayan çocuklarda IL-25 düzeylerindeki yüksekliğe karşın IL-4 ve IL-13 artışının olmayışı IL-25’e yanıtızlığa bağlanabilir. Bununla birlikte Th1 tipi yanıtın göstergesi olan IFN $\gamma$ ’nın astımla ARK birlikteliği olan çocuklarda yüksek düzeylerde saptanması her iki hastalığın tek başına olduğu duruma göre Th1 yanıtın daha da baskılanmış olduğunu düşündürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Birleşik hava yolu, Dendritik hücre, Nazal lavaj, Çocuk

## SUMMARY

Many different local and systemic mechanisms have been blamed in the pathogenesis of “united airways” concept. Common allergic triggers play role in development of both asthma and allergic rhinitis (AR) Dendritic cells (DC) that present these antigens trigger Th2 polarization. Besides their role in antigen presentation in innate immune system, DCs also influence the effector cells that migrate to the area of inflammation via the cytokines they secrete therefore determine the type of inflammation.

The aim of this study was to determine the function of DCs in the immunopathogenesis of the “united airways” concept via measuring levels of interleukin (IL)-1, IL-4, IL-6, IL-10, IL-13, IL-25, interferon $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) and transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) in nasal lavage fluid of children with only asthma, only AR and both asthma and AR and comparing these with the ones in nonallergic children.

Eighty children aged between 5-17 years were enrolled in the study and evaluated in four groups as nonatopic control, atopic asthma, AR and asthma with AR. Age, gender, clinical severity and the age at initiation of these findings were recorded. Nasal lavage was performed in all children and levels of IL-1, IL-4, IL-6, IL-10, IL-13, IL-25, IFN $\gamma$  and TGF- $\beta$  were measured in nasal lavage fluids.

Mean age of the children (39 male, 41 female) enrolled in the study was  $10.0 \pm 2.9$  years. Levels of IL-1 were not different between the groups ( $p=0.379$ ). Likewise, levels of IL-6, IL-10 ve IL-13 were similar between the groups ( $p=0.748$ ,  $p=0.126$ ,  $p=0.249$  respectively). However, it was detected that levels of IL-25 were lowest in the asthma group but highest in the control group ( $p=0.028$ ). On the contrary, IFN $\gamma$  levels were highest in the asthma group with  $27.8 \pm 16.4$  pg/mL while lowest in the asthma with AR group ( $p=0.009$ ). TGF $\beta$  levels did not demonstrate a statistically significant difference between the groups.

Levels of IL-25 detected in our study might indicate that stimulation of Th2 response via upregulation of this cytokines’ receptors by the DCs influence clinical outcome. Response to IL-25 might be the determinant of allergic inflammation and absence of an increase in IL-4 or IL-13 levels despite high IL-25 levels might be attributed to lack of response to IL-25. Moreover, high levels of IFN $\gamma$  in children with coexistent asthma and AR might be due to a more depressed Th1 response compared to the cases with either disease alone.

**Key Words:** United airways, Dendritic cell, Nasal lavage, Child



## I. GİRİŞ

Allerjik rinit (AR), nazal mukozanın alerjenler ile karşılaşması sonucunda burunda ortaya çıkan IgE aracılı inflamasyon ile karakterize bir üst hava yolu hastalığı, astım ise alt hava yolunun reverzibl hava yolu obstrüksiyonu ve hava yolu hiperreaktivitesi ile karakterize kronik inflamatuvar bir hastalıdır. Bu iki hastalık arasındaki yakın epidemiyolojik bağlantı ve iki hastalığın benzer immunopatolojik özellikler göstermesi “birleşik hava yolu” kavramını ortaya çıkarmıştır. “Tek hava yolu” kavramının ortaya çıkışında lokal ve sistemik bir çok farklı mekanizma öne sürülmüştür. Lokal mekanizmalar arasında üst ve alt hava yollarının birbirinin devamı olması sonucunda nazal sekresyonların ve bununla ilişkili inflamatuvar medyatörlerin aspirasyonu ve ortak nörovasküler sistem sayılabilir. Sistemik yangı hücrelerinin aktivasyonu ise öne sürülen diğer mekanizmayı oluşturur. Hem AR hem astımda eozinofil ve T lenfositlerin belirgin olduğu birbirine benzeyen bir yangı süreci gözlenir.

Tüm bunlar yanında her iki hastalığın da ortaya çıkışında ortak allerjik tetikleyiciler rol oynar. Dendritik hücreler (DH) ise bu noktada önem taşır çünkü bu allerjik tetikleyicileri sunmakla görevli olan DH’ler epitel tarafından sentezlenen timik stromal lenfopoetin (TSLP) aracılığı ile Th2 polarizasyonunu tetikler. Bu nedenle de astım ve AR birlikteliğinde epitelin rolünü belirler. Doğal immün sistemdeki antijen sunma etkileri yanında DH’ler salgıladıkları sitokinler aracılığı ile yangının ortaya çıktığı bölgeye göç eden efektör hücrelerin tipini belirler. Böylece de yangının tipinin belirlenmesinde rol oynarlar.

Bu çalışmanın amacı, sadece astımı, sadece AR’i ve astımla birlikte AR’i olan çocuklarda nazal mukozadaki yangının nazal lavaj sıvısında IL1, IL-4, IL-6,IL-10, IL-13, IL25, IFN $\gamma$  ve TGF beta düzeylerinin belirlenmesi ve alerjisi olmayan çocuklar ile karşılaştırılması yolu ile “birleşik hava yolu” kavramı immünpatogenezinde DH fonksiyonlarının belirlenmesidir.

## II. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Allerjik Rinit

#### 2.1.1. Tanım

Allerjik rinit, nazal mukozanın alerjenler ile karşılaşması sonucunda burunda ortaya çıkan IgE aracılı inflamasyon ile karakterize bir üst hava yolu hastalığıdır (1). Rinit, anterior ve posterior rinore, hapşırma, burun tıkanıklığı ve kaşıntısı ile karakteriz burun mukozasının inflamasyonu olarak tanımlanabilir (2).

#### 2.1.2. Epidemioloji

Alerjen ile karşılaşma sonrasında ortaya çıkan immunglobulin E (IgE) aracılı inflamasyon ile karakterize olan AR en sık immunolojik hastalıktır (3). AR sıklığı bölgemizde “The international study of asthma and allergies in childhood” (ISAAC) anketi temelli yapılan bir çalışmada %14.5 olarak bulunmuştur (4). Türkiyenin ve dünyanın farklı bölgelerinden rapor edilen değerler oldukça değişkenlik göstermektedir (5-10). Ankara’da 2006 yılında yapılan bir çalışmada %30.6 AR sıklığı bildirilmektedir (7). Macaristan’da yine ISAAC anketi kullanılarak yapılan toplum temelli bir çalışmada ise sıklığın %14.9 olduğu, doktor tanıli AR sıklığının ise %11.6 olduğu saptanmıştır (8). Tayland’dan %40’ lara varan AR sıklığı raporları mevcuttur (9). Avrupa genelinde yapılan çalışmada ise AR sıklığının %22.7 olduğu ve Avrupa ülkeleri arasında %16.9 ile %28.5 arasında değiştiği gözlenmiştir (10).

Allerjik rinitin ortaya çıkışında hem genetik hem de çevresel birçok risk faktörü rol oynar (2). Ailede atopi öyküsü risk oluştururken, iç ve dış ortam alerjenleriyle karşılaşma ve bunlara duyarlanma da risk oluşturmaktadır (2).

#### 2.1.3. Patogenez

Allerjik rinit patogenezini alerjen tarafından IgE molekülünün bağlanması sonucunda mast hücre aktivasyonu ile ilişkilidir (11,12). Bunu takiben ortaya çıkan mast hücre

degranülasyonu ile histamin ve triptaz gibi mast hücre medyatörleri ortama salınır (11,12). Ayrıca aktive mast hücreler membrandaki araşidonik asidi de mobilize ederek lökotrienler gibi medyatörlerin ortaya çıkmasına neden olur (11,12). Bu hızlı ortaya çıkan medyatörlerin birincil etkisi hapşırma, kaşıntı ve rinore gibi AR' in erken bulgularının oluşmasıdır (13).

Bu erken medyatörler sitokinler ve interlökinler gibi sistemik inflamatuvar medyatörlerde artışa neden olur ve geç faz reaksiyon tetiklenir (13). Sistemik inflamatuvar medyatörlerin etkisi ile kemik iliğinde eozinofil prekürsörlerinin matürasyonu ve yangı bölgesine göçü tetiklenir (13). Yangı bölgesine ulaşan eozinofil ve bazofiller histamin ve lökotrienler gibi inflamatuvar medyatörlerin uzun süreli salınımına neden olarak nazal konjesyonun belirgin olduğu geç faz yanıtı oluşturur (13).

Geç faz yanıt sonucu ortaya çıkmasına karşın alerjen ile karşılaşmadan kısa süre sonra öznel nazal konjesyon bulgularının ortaya çıkmasının nedeni histamin gibi hazır olan mast hücre medyatörleri, hızlı sentezlenen eikosanoidler ve nörotransmitterlerdir (13). Bu medyatörler mukozal damarlarda değişiklikler ortaya çıkararak sulu rinore ve kapasitans damarlarında engorjmana neden olarak semptomatik nazal konjesyon ile sonuçlanırlar (13). Bunu izleyen dönemde geç dönem yangısal hücrelerin bölgeye göçü ve diğer inflamatuvar medyatörlerin salınımı nazal konjesyonda artış ile sonuçlanır (13). Ayrıca gece yatar pozisyonda geçirilen zamanda nazal kapasitans damarlarında kan göllenmesinde artış olması nazal konjesyon ile uyku bozuklukları arasındaki ilişkiye katkıda bulunur (13).

#### **2.1.4. Klinik**

Allerjik rinit hapşırma, rinore, burun, göz ve kulaklarda kaşıntı ve nazal konjesyon ile karakterizedir (13). Tüm bu yakınmalar hem yaşam kalitesini hem de uyku kalitesini bozar (14). Nazal konjesyon sıklıkla en belirgin ve hastaları en çok rahatsız eden belirtidir (13). Nazal konjesyonun ağırlığı ve uyku ile ilişkili solunum bozuklukları arasında ilişki olduğu belirtilmektedir (15). Bu nedenle tedavi edilmemiş AR olgularındaki yakınmalar, okul performansı ve üretkenlik gibi günlük işlevleri olumsuz etkiler (16).

Allerjik rinit ağırlık ve süresine göre sınıflandırılır. İntermitan AR haftada dört gün ya da daha az sıklıkta ya da dört hafta ya da daha kısa süre devam eden bulguları anlatır. Persistan AR haftada dört günden daha sık ya da dört haftadan daha uzun süren bulguları anlatır (2). Hafif AR, uyku bozukluğu, günlük aktiviteler ve/veya spor aktivitelerinde bozukluk, okul ya da işte bozulma ya da sıkıntı verici semptomların yokluğu ile

karakterizedir (2). Orta ağır AR ise uyku bozukluğu, günlük aktiviteler ve/veya spor aktivitelerinde bozukluk, okul ya da işte bozulma ya da sıkıntı verici semptomlardan en az birinin varlığı ile karakterizedir (2).

Allerjik rinit sadece nazal yakınmalar ile ilişkili değildir ve hem fiziksel hem mental birçok fonksiyonu etkileyebilir (17). Öğrenme ve uyuma gibi mental fonksiyonlarda bozulma AR nedeni ile ortaya çıkabileceği gibi efüzyonlu otitis media, sinüzit, horlama ve apne de eşlik edebilir (18).

### **2.1.5. Tanı**

Allerjik rinit tanısı tipik allerjik yakınma öyküsü ve tanısal testler yardımı ile belirlenir (2). Tipik allerjik yakınmalar arasında burun akıntısı, tıkanıklığı, kaşıntısı ve hapşırma yer alır (1,13). Bunlara sıklıkla göz kaşıntısı ve hiperemi gibi konjonktivit bulguları eşlik eder.

Total IgE ölçümü alerji taramasında değeri sınırlı olduğu için önerilmezken (19) alerjene özgü IgE ölçümlerinin deri testlerine yakın değeri olduğu bildirilmektedir (20).

Akut dönemde hipersensitive deri testleri derinin IgE aracılı allerjik yanıtını göstermek için sık kullanılır ve alerji pratiğinde önemli yeri vardır. Ancak bu testlerin uygulanması ve yorumlanması karmaşık olduğundan bu konuda deneyimli ve eğitilmiş bir sağlık personeli tarafından uygulanmaları önem taşır (2).

Nazal provokasyon testleri yararlı bilgiler sunabilmesine karşın daha çok araştırma amacı ile kullanılır ve klinik kullanımı sınırlıdır (21).

### **2.1.6. Tedavi**

Allerjik rinit tedavisinde, semptomların IgE aracılı alerji nedeni ile gösterilmiş olan hastalarda tedavinin ilk basamağı alerjiden korunmadır (17).

Medikal tedavinin ilk basamağını ise antihistaminik ilaçlar oluşturur ve histaminin etkilerini antagonize ederek rinore, hapşırma ve kaşıntıyı azaltırlar (22). Yeni kuşak antihistaminiklerden setrizin, levo-setrizin, desloratadin and feksofenadin sedasyon etkilerinin düşüklüğü nedeni ile tercih nedenidir (22).

Intranasal kortikosteroidler AR tedavisinde etkinliği gösterilmiş bir modalitedir (22). Nazal kortikosteroidler AR’te inflamatuvar kaskadın bir çokbasamağına etki eder (23). İnflamatuvar hücrelerin nazal mukozaya göçünü ve fonksiyonlarını önler, mast hücrelerden mediyatör salınımını ve bazofillerden histamin salınımını azaltır, eozinofil apoptozisine

neden olut (23). T hücre tarafından bakıldığında ise, T hepler 2 (Th2) hücrelerinin sayısını azaltır ve Th2 sitokinlerin salınımını engeller (23). Ayrıca regülatuar T hücre gelişimini de indükler (23).

Montelukast gibi lökotrien reseptör antagonistlerinin de AR tedavisinde yaşam kalitesi ve klinik belirtileri iyileştirdikleri gösterilmiştir (22).

Allerjik rinit, spesifik immunoterapinin etkinliğinin en iyi gösterildiği ve kanıtlandığı hastalık grubunu oluşturur (24). Allerjinin doğal sürecini değiştirebilecek tedaviler arasında alerjende korunma ile birlikte alerjen spesifik immunoterapi yer alır (24). Antijen spesifik immunoterapi, immün sistemin uzun dönem kontrol edici tedavilere gerek duymaksızın alerjenleri tolere etmesini sağlar (24). Allerjik kaskadın bir çok basamağına etki eden bu tedavi yöntemi, blokan antikolar olarak da bilinen antijen spesifik IgG4 artışına neden olarak efektör hücreler üzerinde alerjinin IgE ile interaksiyonunu engeller (24). Ayrıca, spesifik immunoterapi, nazal mukoza gibi allerjik yangının ortaya çıktığı dokularda mast hücre ve eozinofil gibi efektör hücrelerin birikimini azaltır (24). Bunun yanında, spesifik immunoterapinin T hücre yanıtlarında T helper 2 (Th2)den T helper 1 (Th1)e dönüş ve regülatuar T hücrelerde artışa neden olduğu gösterilmiştir (24). Yapılan klinik çalışmalarda gösterilmiştir ki AR tedavisinde spesifik immunoterapi klinik ve yaşam kalitesinde iyileşme sağlamak ve bu etkiler immunoterapi sonlandırıldıktan sonra da uzun dönemde sürmektedir (25,26). Ayrıca, spesifik immunoterapinin gösterilmiş diğer bir önemli etkisi de AR' li çocuklarda uzun dönemde astım gelişimini engellemesidir (27-29).

## **2.2. Astım**

### **2.2.1. Tanım**

Astım, alt hava yolunun büyük oranda spontan olarak ya da tedavi ile reverzibl hava yolu obstrüksiyonu, hava yolu hiperreaktivitesi ve epizodik solunum semptomları ile karakterize heterojen kronik inflamatuvar bir hastalığıdır (1, 30,31).

### **2.2.2. Epidemiyoloji**

Astım gelişiminde önemli olan risk faktörleri arasında kişiye ait genetik etkenler ve çevresel etkenler birlikte rol oynar (31). Yaşamın erken döneminde erkeklerde daha sık görülen hastalığın puberte sonrası kızlarda artar (31). Çevresel etkenlerden ise en önemliler havadaki alerjenler ve viral solunum yolu enfeksiyonlarıdır (31). Sigara dumanı

maruziyeti, hava kirliliği ve diyetin de astım gelişiminde rolü olduğunu bildiren çalışmalar vardır (32,33).

### 2.2.3. Patogenez

Astımla ilişkili yangısal ve yapısal değişiklikler erken okul öncesi yaşlarda ortaya çıktığı düşünülmektedir (30). Astım ve hava yolu hiperreaktivitesinin atopiden bağımsız bir genetik temeli vardır (34). Astım sadece inhale alerjenlere karşı hücrel ve medyatör yanıtı değil inhale edilen çevresel etkenler ve hava yolunun yapısal elemanları arasındaki komplike ilişkinin bir sonucudur (34). Hava yolu epiteli ve altta yatan mezenkimal (epitelyal mezenkimal ünite) atopik fenotipin alt solunum yollarında ekspresyonunda önemli rol oynadığı düşünülmektedir (34).

Astımda ortaya çıkan yapısal değişiklikler içinde özellikle dikkat çekici olan bebeklerde saptanmayan ancak altı yaşından küçük olan çocuklarda bile görülen bazal membran kalınlaşmasıdır (30). Bunun yanında, eozinofiller gibi hava yolundaki yangı hücrelerinde artış da çocukluk çağı astımında gözlenen diğer bir histopatolojik değişikliktir (30). Bunların yanında, ekhale hava kondensat çalışmaları, oksidatif ve antioksidan dengesizlik olduğunu vurgulamaktadır (35,36).

Astım patogenezinde hem başlangıç hem de temel rolü oynayan hava yolu epiteli (37). Hava yolu epiteli sadece bariyer fonksiyonu nedeni ile değil salgıladığı sitokinler ve büyüme faktörleri ile de hava yolundaki yangısal sürece ve remodellinge katkıda bulunur (37).

Astımdaki hava yolu yangısı eozinofiller, nötrofiller, CD4<sup>+</sup> T lenfositler ve mast hücrelerin katıldığı multi selüler bir süreçtir (37). Astımın akut inflamatuvar evresinde hava yolu patolojisinin mast hücreler, Th2 lenfositler ve eozinofiller hakimdir ve ortamda interlökin (IL)-3, IL-4, IL-5, IL-9 ve IL-13 sitokinleri mevcuttur (38). Mast hücreler astım başlangıcına hem akut faz medyatörlerin salınımı hem de inflamatuvar sitokinlerin salınımı yolu ile katkıda bulunur (39,40). Mukozal yerleşimli mast hücreler inhale antijenlere karşı bronkoskonstriksiyon yanıtına neden olurken, daha derinde yerleşimli olan mast hücrelerin düz kas fibrozisi ve artışı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (37). Th2 yönündeki lenfosit polarizasyonu IL-4, IL-5 ve IL-13 salınımı yolu ile bu yangısal süreci belirler ve IgE yapımını regüle eder (38). Allerjik yangının temel hücreleri olan eozinofiller, hava yolu inflamasyonu ve hiperreaktivitesi ve hava yolu obstrüksiyonuna neden olur (38). Eozinofiller granül bazik proteinleri, peroksidaz ve katyonik protein kaynağıdır ve

prostasiklin ve sisteinil lökotrien üretir (37). Her ne kadar bu yangısal süreç önce büyük hava yollarına lokalize olsa da hastalığın kronik hale geldiği ve ağırlaştığı durumlarda küçük hava yolu ve alveollere yayılır (37).

Astımın kronik sürecinde remodelling olarak adlandırılan kronik değişiklikler ortaya çıkar ve hava yolu epiteli bu persistan inflamatur hava yolu değişikliklerine katkıda bulunur (41). Tüm bu maddeler ve sitokinler aracılığı ile eozinofiller astımda doku hasarına katkıda bulunurken, salgıladıkları transforming growth faktör-  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) aracılığı ile remodellinge de katkıda bulunurlar (37).

#### **2.2.4. Klinik**

Genellikle hastalığın ilk bulguları viral enfeksiyonlar ile olan hışıltı şeklinde bebeklik ya da erken çocukluk evresine dayanır (30). Beş yaş ve altındaki çocuklarda astımda en sık bulgu hışıltıdır ve sıklıkla viral enfeksiyonlarla tetiklenir (33). Astımın önemli bir klinik belirtisi öksürüktür (31,33). Eforla ya da gece artış gösteren öksürük özellikle astım açısından önemli klinik bulgulardır (31,33). Hastanın kendi bildirdiği nefes darlığı ya da ailenin fark ettiği zor nefes alma astım bulgularından birini oluşturur (33).

#### **2.2.5. Tanı**

Astım tanısında dikkatli bir öykü, fizik bakı ve solunum fonksiyon testleri yeterli bilgi sağlayacaktır ancak bazı durumlarda ek testler gerekebilir (31). Tanı için hava yolu obstrüksiyonuna ait epizodik belirtilerin bulunması, hava yolu obstrüksiyonunun en azından parsiyel olarak reversibilitesinin göstermesi ve olası diğer tanıların ekarte edilmesi önemlidir (31).

Öyküde sıklıkla hışıltı, geceleri artan öksürük, nefes darlığı ve göğüste sıkışma hissi olabilir (31). Belirtiler sıklıkla sigara dumanı, viral enfeksiyon, hava değişimi gibi çevresel etkenlerin varlığında artar (31).

Fizik bakıda toraksta hiperekspansiyon, yardımcı solunum kaslarının kullanımı ve göğüs kafesi deformitesi saptanabilir (31). Bununla birlikte normal soluk alma sırasında hışıltı ya da zorlu ekshalasyon süresinin uzaması saptanabilir (31).

Solunum fonksiyon testleri beş yaş ve üzerindeki çocuklarda birinci saniyedeki zorlu ekspiratuar volüm (FEV1), zorlu vital kapasite (FVC) ve FEV1/FVC değerlerinin kısa etkili bronkodilatör uygulaması öncesi ve sonrasında alınması şeklinde önerilir

(31).Belirgin reversibilite, bronkodilatör sonrası FEV1'de %12 değişim olarak tanımlanmaktadır (31).

### **2.2.6. Tedavi**

Astım tedavisinin dört ana komponenti vardır: Değerlendirme ve izlem, astım tedavisindeki yardımcıların eğitimi, çevresel etkenlerin kontrolü ve farmakolojik tedavi (31,33).

Çevre kontrolü astım tedavi basamaklarından ilkinin oluşturur. Bunlardan ilki alerjen duyarlılığı olan kişilerin alerjenlerden olabildiğince korunmasıdır. Ev içinde hayvan bulundurulmaması ve ev içi ortam kirliliği yaratabilecek sigara dumanı, ev içi nemlendiriciler sayılabilir (31,33).

Astımın farmakolojik tedavisi iki gruptan oluşur: uzun dönem kontrol ilaçları ve kısa dönem rahatlatıcı ilaçlar (31,33). Uzun dönem kontrol ilaçları arasında glukokortikoidler, lökotrien antagonistleri, uzun etkili beta2 agonistler, metilksantinler, kromolinler ve omalizumab gibi immunmodulatörler yer alır (31,33).

Glukokortikoidler alerjene geç faz yanıtı engeller, hava yolu hiperreaktivitesini azaltı ve inflamatuvar hücre migrasyon ve aktivasyonunu engeller (31,33). İn hale kortikosteroidler, uzun dönem astım kontrolünde en etkin antiinflamatuvar tedaviyi oluştururlar (31,33).

Kromolin sodyum ve nedokromil, mast hücre stabilizatörüdür ve klor kanal fonksiyonlarını etkiler (31). Hafif persistan astımda kullanılabilen ancak tercih edilmeyen ilaçlardır (31,33).

Lökotrien reseptör antagonistleri ve 5-lipoksijenaz inhibitörlerinin inhale kortikosteroidlere ek tedavi olarak kullanılması önerilmektedir (31,33).

Salmeterol ve formoterol gibi uzun etkili beta2 agonistler inhale kortikosteroidlere ek olarak kullanılabilir ilaçlar olup 12 saat kadar süren bronkodilatasyon sağlarlar (31,33).

Metilksantinlerden yavaş salınımlı teofilin bronkodilatör olarak kullanılabilir ve hafif antiinflamatuvar etkileri de vardır ancak serum düzeylerinin monitorizasyonunu gerektirir (31,33).

Kısa dönem rahatlatıcılar ise kısa etkili bronkodilatörleri, antikolinerjikleri ve sistemik kortikosteroidleri içerir (31,33). Salbutamol ve albuterol gibi kısa etkili bronkodilatörler düz kasları gevşeterek bronkodilatasyon sağlar (31,33).



Spesifik immunoterapi astımda etkinliği hakkında farklı sonuçlar rapor edilmiş olan bir tedavi yöntemidir (24, 27,28). Astımlı çocukların emptom skoru, acil servis ve hastane yatışlarında immunoterapi ile iyileşme olduğunu gösteren yayınlar vardır (42).

### **2.3. Birleşik Hava Yolu Hipotezi**

Allerjik rinit ve astım arasında yakın bir epidemiyolojik bağlantı vardır (3). Astımlıların %60'ı AR bulguları gösterirken, AR' i olan hastalarda astım riski olmayanlara göre sekiz kat daha sıktır (3). Nazal yangı, bronşial fonksiyonları belirgin etkiler (43,44). Nazal hava akımı ve birinci saniyedeki FEV1 nazal eozinofil sayısı ile, nazal hava akımının da FEV1 ile korelasyon gösterdiği gösterilmiştir (43). Bununla birlikte nazal eozinofil sayısı, nazal hava akımı ve FEV1 arasında da anlamlı ilişki olduğunu bildirilmektedir (44).

Rinit ve astımın birbiri ile sıklıkla ilişkili olması ve benzer immunopatolojik özellikleri paylaşması “tek hava yolu tek hastalık” ya da “birleşik hava yolu” kavramının doğmasına neden olmuştur (45). Bu birliktelikle ilgili farklı mekanizmalar öne sürülmüştür. Bunlardan ilki solunum yolu ile ilişkili etkenlerdir. Bunlar arasında AR' li hastalarda burnun koruyucu fonksiyonlarının kaybı, üst ve alt hava yolları arasındaki nörovasküler bağlantı, postnazal akıntı nedeni ile nazal sekresyonların aspirasyonu ve bu sekresyonlar ile birlikte inflamatuvar medyatörlerin de aspirasyonu yer alır (45). Ayrıca, nazal nitrik oksit yapımındaki değişiklikler, değişen soluk alma paterni, yangıya bağlı yapısal değişiklikler

Allerjik rinit ve astım birlikteliğinde rol oynayabileceği düşünülen diğer mekanizma ise sistemik etkilerdir. Bunlar arasında sistemik yangı hücrelerinin aktivasyonu yer alır (45). Ayrıca lokal olarak burunda üretilen medyatörlerin sistemik etkileri de alt solunum yolu bulgularına katkıda bulunur (45).

Sonuç olarak AR ve astım eozinofillerin ve T lenfositlerin hakim olduğu benzer bir yangı paterni gösterir ve yapısal olarak da burun ve bronşlar benzerdir (46). Ancak AR ve astım arasında bazı farklılıklar da vardır ve bunlardan en önemlisini remodellingin AR gözlenmeyip kronik astımda bulunması oluşturur (46).

Hava yolu ve akciğerin inflamatuvar uyarılar ve antijenler ile karşılaşmasında ilk savunmayı hava yolu epiteli oluşturur ve epitelyal aktivasyon Astım ve AR' in karakteristik özelliğidir (47). İki hastalık arasındaki ilişkinin ortak allerjik tetikleyicilerden kaynaklandığı düşünülmektedir (47). Hava yolu epiteli tarafından sentezlenen TSLP DH'

leri Th2 polarizasyonuna yönlendirir ve allerjik yangı ile epitel hücre aktivasyonu arasında ilişki kurar (47).

Epitelyal hücreler konak savunmasında, yangının ve diğer immün yanıtların düzenlenmesinde önemli rol oynar (47). Epitelin bir diğer önemli görevi ise mukozal bariyer fonksiyonunun yürütülmesidir (47). Bu özellikleri nedeni ile doğal immün sistem ile ilişkisi olan epitel hücreleri, immün yanıt sırasında eksprese ettikleri patern tanıyan reseptörler (PRR) nedeni ile savunma yanıtını uyarır, DH' ler ile interaksiyon sonucunda antijen sensitizasyonunu düzenler ve efektör hücreleri bölgeye çekecek sitokinler salgılar (47). Bu yönü ile epitel hücre adaptif immüneyi de düzenleyici rol üstlenmektedir (47).

Bu yönleri ile epitelin astım ve AR birlikteliğinde önemli bir ilk basamak rolü oynadığı düşünülmektedir (47).

#### **2.4. Dendritik Hücre**

Dendritik hücre (DH), antijenleri alıp işlemedeki etkinliği ve yüksek düzeyde kostimulatuar molekül eksprese etmesi nedeni ile T lenfositleri aktive etme yeteneği olan özelleşmiş bir antijen sunucu hücredir (48). Adaptif immün yanıtın düzeyi ve kalitesini belirleyen DH'ler, ilk olarak 1868'de Langerhans tarafından deride tanımlanmıştır (49,50). Bu hücrelerin doğal immün sistemden aldığı uyarıların türü adaptif immün yanıtın tipini belirler (50).

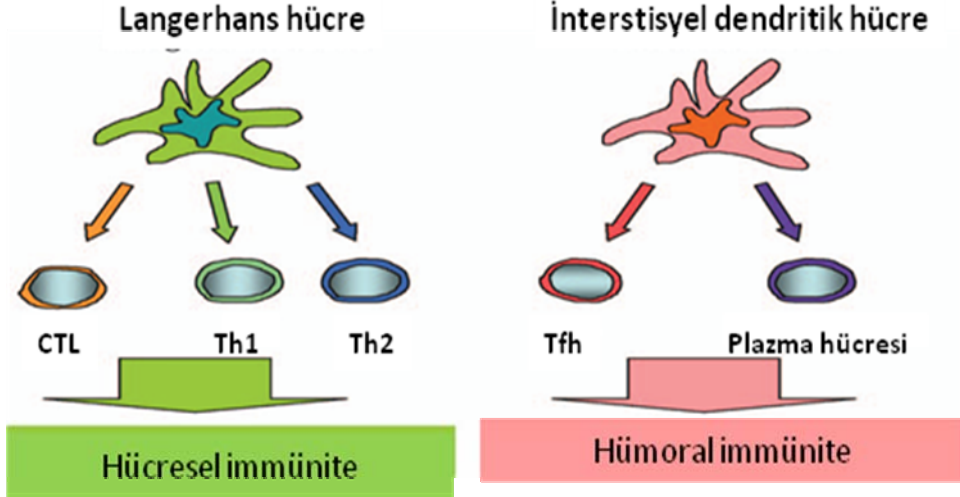
Dendritik hücreler kemik iliğindeki progenitor hücrelerden kaynaklanır (49). Periferik dokularda immatür durumda bulunan bu DH'ler değişik endositik mekanizmalar kullanarak çevreden örnek alma yeteneğine sahiptir ancak MHC molekül ve T hücre kostimulatuar molekül ekspresyonları düşüktür (51). İmmatür DH'lerin patojen ilişkili moleküler paternler, sekonder inflammatuar maddeler, sitokinler ve kemokinler için reseptörleri bulunur (51). Mikrobiyal enfeksiyonlar ve doku hasarı olduğunda, sentezlenen kemokinleri özelleşmiş reseptörleri aracılığı ile tanıyan immatür DH'ler yangının olduğu bölgelere göç ederler (49). Patojenleri tanıdıkları zaman, yüksek miktarlarda proinflammatuar ve antiviral sitokinler salgılayarak doğan immün hücreleri aktive ederler ve enfeksiyonun yayılmasını engellerler (49). Aynı zamanda, bu DH'lerin, endositik ve fagositik reseptörleri kaybolur, yüzey MHCII ve kostimulatuar molekül ekspresyonu artar, morfolojileri değişir ve antijen işleme özellikleri aktive olur (49). Bunun sonucunda DH matür formunu alır (49).

Matür DH, afferent lenfatikler yolu ile lokal lenf nodu bölgelerinin T hücre bölgelerine göç eder (49,52). DH' deki MHC-peptid kompleksi ve bölgesel T lenfositlerindeki T hücre reseptörlerinin (TCR) interaksyonu sonucunda T hücre aktivasyonu ve efektör hücelere diferensiasyonu indüklenerek primer immün yanıt oluşumu sağlanır (49,52). DH tarafından zararsız antijen sunumu durumunda DH matürasyonu gerçekleşmez ve bu DH tarafından uyarım sonucunda abortif T hücre proliferasyonu ile birlikte regülatuar T hücre (Treg) gelişimi olur (52).

#### **2.4.1. Alt Tipler**

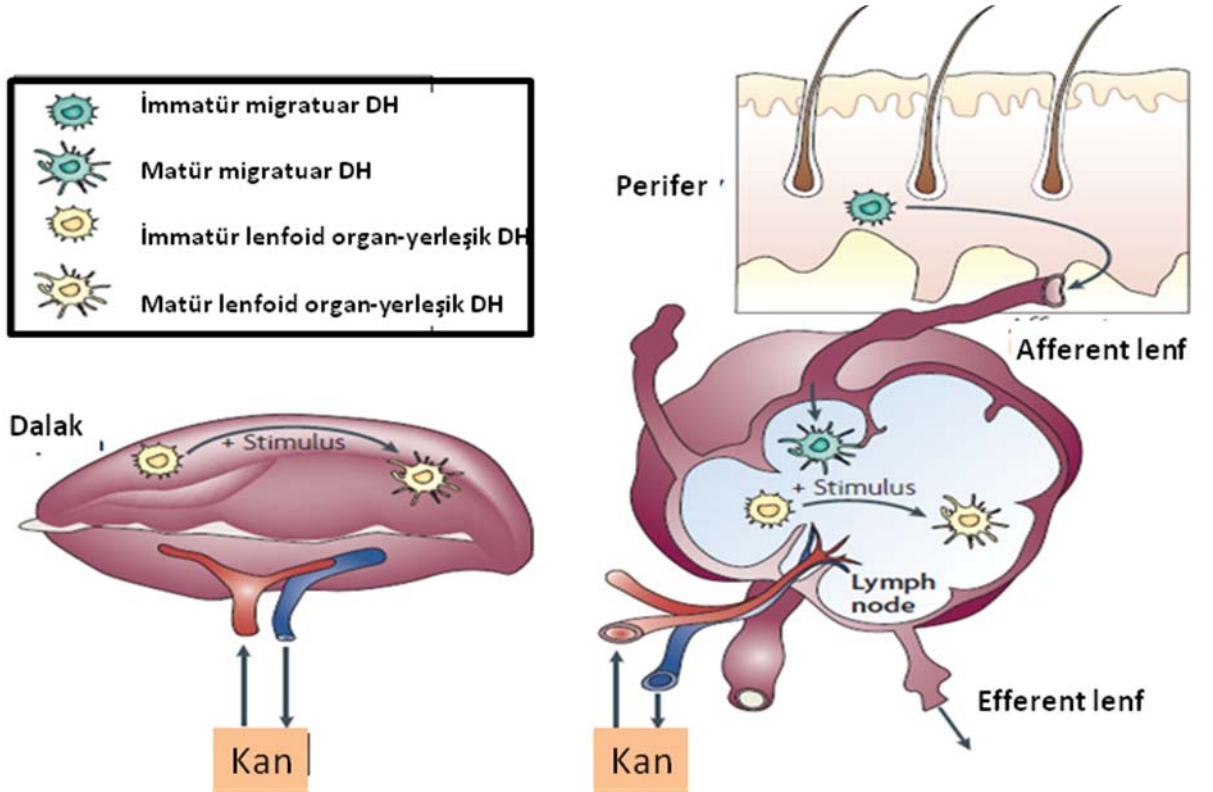
İnsandaki DH' ler, yüzeylerinde eksprese ettiklere moleküllere göre sınıflandırılırlar ancak bunların farklı hücreler değil uyarımdaki farklılıklardan kaynaklandığı düşünülmektedir (49). Hematopoetik öncül hücrelerden gelişim sırasında DH için iki ana yolak bulunur (50). Bunlardan biri myeloid DH (mDH) gelişimi ile sonuçlanır diğeri ise plasmacytoid DH (pDH) gelişimi ile sonuçlanır (50). Flt-3 ligandı, DH homeostazının birincil regülatörüdür ve hem mDH hem de pDH yapımını artırır (50).

Myeloid DH en az üç farklı kompartmanda bulunur: periferik dokularda, sekonder lenfoid organlarda ve kan dolaşımında (50). Myeloid DH' lerin migratuar olarak adlandırılan alt tipi periferik dokulardaki erken prekürsörlerden gelişir ve afferent lenfatik yol ile sekonder lenfoid organlara gider (51). Migratuar DH'lerin de iki tipi vardır ve deride epidermiste yer alan langerhans hücreleri (LH) ve dermiste yer alan interstisyel DH (intDH) ler olarak adlandırılır (51,53). Bu iki tür mDH farklı molekülleri eksprese eder (50,51). LH, CD1a, langerin ve E-kadherin eksprese ederken, dermal intDH, DC-SIGN, CD11b, faktör 13a ve CD14 eksprese eder (50). Bu iki hücre grubu hem farklı stimulanlara yanıtları hem de hücelere üzerine etkileri açısından farklılıklar gösterir (50). IntDH' ler, IL-6 ve IL-12 salgılamaları nedeni ile naif B hücrelerin IgM salgılayan plazma hücrelerine diferansiasyonunu sağlar ancak LH' leri sitotoksik CD8 T hücrelerinin aktivasyonunda etkindir (50). LH' leri, naif CD4 T hücrelerini aktive eder ve interferon  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) salgılayan Th1 polarizasyonunu sağlarlar (50). Her iki hücre grubu da bellek T ve B lenfositlerinin proliferasyonunu ve diferansiasyonunu aktive eder (50) (Resim 1).



Şekil 1. Derideki farklı DH gruplarının etkileri

Lenfoid organlardaki ikinci mDH grubu yerleşik DH' lerdir (51). Bunlar CD4 ve CD8 ekspresyonlarına göre üç alt tipe ayrılır:  $CD4^+DH$ ,  $CD8^+DH$  ve  $CD4^-CD8^-DH$  (51). Lenfoid organlarda yerleşik DH' ler Langerhand hücre paradigmasına uymazlar; periferik dokulardan geçmeden lenfoid organlardaki kemik iliği prekürsörlerinden gelişirler. Ayrıca enfeksiyon yokluğunda tüm yaşamları boyunca immatür halde kalırlar (51) (Resim 2).



Şekil 2. Migratuar ve lenfoid organda yerleşik DH'lerin gelişimi

Periferik lenfoid organlardaki DH'ler hem immünite hem de toleransta rol oynar (50). Lenfatiklerden gelen mikrobiyal antijenleri yakalar ve PRR' ler aracılığı ile stimüle olarak antijene özgül T hücrelerin proliferasyon ve IL-2 salgılamasını uyarır (50). Timusta timik epitelyum hücreleri tarafından ya da DH tarafından ekprese edilen organizmanın endojen proteinlerinin gelişen timosite DH tarafından sunulması sonucunda santral tolerans gelişir (54,55). Ancak bazı otoreaktif T hücreler timik santral tolerans mekanizmasından kaçıp periferik dolaşıma ulaşabilir ve bunların dalak ve lenf nodlarındaki DH' lerce yürütülen periferik tolerans mekanizmaları tarafından kontrol edilmeleri gerekir (56).

Periferik kanda hem mDH hem de pDH blunur (50). Kandaki mDH' lerin fizyolojik rolü netleşmemiştir ancak DH prekürsörü gibi rol oynadıkları ya da kandaki mikrobiyal ajanları tanımada görev yaptıkları düşünülmektedir (50). Periferik kanda iki ana myeloid DH alt grubu vardır;  $CD4^+CD1a^+CD11c^{yüksek}BDCA-1/CD1c^+$  ve  $CD4^+CD1a^-CD11c^{düşük}BDCA-3/CD141^+$  hücre (49).  $CD4^+CD1a^+CD11c^{yüksek}BDCA-1/CD1c^+$  hücreler CD2, CD 11b, CD13, CD32, CD33, CD64, CD45RO ve CD116 ekprese ederler.  $CD4^+CD1a^-CD11c^{düşük}BDCA-3/CD141^+$  hücreler ise CD13, CD33, CD45RO and CD116 ekprese ederler (49). Bu konvansiyonel myeloid DH alt grupları T hücreleri stimüle ederler (49).

Kan dolaşımındaki pDH' ler viral stimülasyona yüksek miktarlarda IFN salgılayarak yanıt verirler DH (49,50). Bu hücreler  $MHCII^+CD11c^-CD4^+CD45RA^+CD123^+ILT3^+ILT1^-$  olup periferik kan mononükleer hücrelerinin %0.4'ünü oluştururlar (49). Ayrıca BDCA-2/CD303 ve BDCA-4/CD304 markerları da pDH'lere özgüdür (49). Bu hücreler, naif T hücreleri indükleyerek Th1 ve Th2 yanıtının oluşumunu sağlamanın yanında tolerans gelişiminde de rol oynar (49).

Akciğerde iki ana DH grubu bulunur: hava yolu DH' leri ve parenkimal akciğer DH' leri (57). Parenkimal DH' lerin yarı ömrü 10 gün kadar uzunken, hava yolu DH' lerininki 36 saattir (57).

#### 2.4.2. Çevreden Örnek Alımı

Dendritik hücre, çevreyi Tümör nekrotizan faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) ya da mikrobiyal ürünler ile karşılaşması sonucunda stimüle olan makropinositoz, reseptör aracılı endositoz ve fagositoz aracılığı ile tanır (49). Sonuçta matürasyon belirleyicilerinden CD80, CD86, MHCII' de artış gözlenir (49). DH'nin endositozta görev alan reseptörleri:

1- *İmmünglobulin Fc parçası için reseptörler (FcR):*

DH üzerinde Fc $\gamma$ RI (CD64), Fc $\gamma$ RII (CD32), Fc $\gamma$ RIII (CD16), Fc $\epsilon$ RI , Fc $\epsilon$ RII (CD23), Fc $\alpha$ R1 (CD89) vardır ve bunlar immün komplekslerin hücre içine alınmasını ve antijenin MHCII tarafından sunulması için sitozole yönelmesini sağlarlar (49).

2- *Komplemanın aktive elemanları için reseptörler:*

CR3 için CD11b/CD18 ve CR4 için CD11c/CD18 (49).

3- *Apoptotik hücreleri tanımak için reseptörler:*

LOX1, CD36,  $\alpha\gamma\beta$ 3,  $\alpha\gamma\beta$ 5 (49).

4- *C-tipi lektin reseptörleri (CLR):*

Patojenleri üzerindeki karbonhidratları tanımaya yarayan bu reseptörlerin farklı DH lerde farklı tipleri eksprese edilir (49). Periferik kan monositlerinden türeyen DH tarafından makrofaj mannoz reseptörü CD206, DEC205 (CD205), DC-SIGN (CD 209) gibi reseptörler eksprese edilirken Langerhans hücreleri tarafından Langerin (CD207) ve DEC 205 eksprese edilir (49).

5- *Scavenger (Çöpçü) Reseptörler (SR)*

Polianyonik ligandlara bağlanan bu reseptörler lipoproteinleri temizler ve patojenleri hücre içine alırlar. SRA, CD36, LOX1 reseptörleri SR' ler arasında yer alır (49).

Bu reseptörlerden FcR ve Kompleman reseptörleri opsonize mikroorganizmalarının fagositozunda, MR, DC-SIGN ve CD36 ise opsonize olmamış mikroorganizmaların fagositozunda rol oynar (49).

Reseptörleri aracılığı ile antijenleri tanıyan DH oral kavite gibi psödostatifiye epitelyum ile dōşeli alanlarda antijene ulaşabilmek için epitelin apikal yüzeyine göç eder ve doğrudan antijen örneği alır (49). Hava yolu sıkı bağlar ve zonula okludens proteinleri ile birbirine bağlı epitelyum hücreleri ile dōşelidir ve bu epitelyum inhale edilen antijen ve patojenlerden koruyucu tabaka oluşturur (58). Mukozal DH' ler bazolateral yüzeyde yerleşmiştir ve inhale edilen havadan epitel sıkı bağları ile ayrılır (58). Hava yolu lumenindeki antijenlerden örnek alabilmek için DH' ler dendritlerini epitel hücreleri arasından hava yolu lumenine uzatır (58). Dendritlerini uzatabilmek için, DH intestinal epitelyum hücrelerinin yüzeyinde bulunan kemokinin reseptörü olan CX3CR1 eksprese eder (49). Sıkı bağlar açıldığında epitelyum bariyerinin bütünlüğünü koruyabilmek için ise Zonula occludens 1 gibi sıkı bağ proteinleri eksprese eder (59).

Akçeğerdeki DH' ler tarafından alınan antijen CC kemokin reseptörü 7 (CCR7) ve CCR8 aracılığı ile mediastinal lenf nodlarına göç eder (60,61).DH tarafından lenf noduna, CCR7 aracılıklı bu antijen transportunun sürekli olması tolerans gelişiminde etkilidir (61).

### 2.4.3. Aktivasyonda Rol Alan Reseptör ve Moleküller

İmmatür DH doğal immün sistemin bir üyesi olması nedeni ile tehlike sinyallerini tanımak için birçok reseptör eksprese eder (52). Bu stres sinyallerinin tanınması DH'nin matürasyonu ile sonuçlanabilir (49).

Bunlardan en önemlilerinden biri patjenler ile ilişkili moleküler paternleri (Pathogen associated molecular pattern-PAMP) tanımaya yarayan PRR' dir (49). Toll like reseptörler (TLR), CLR ve nükleotid oligomerizasyon domain (NOD) benzeri reseptörler (NLR), PRR arasında yer alan reseptörlerdir (49,50).

Mikrobiyal lipidler, proteinler ve lipopolisakkaritlerdeki PAMP' ların TLR' ler tarafından tanınması sonucunda DH aktivasyonu ve inflamatuvar sitokin yapımı gerçekleşir (49). Farklı DH alt tipleri tarafından farklı TLR' lerin ekspresyonu mikroplara farklı yanıt verilmesini sağlar (50). Örneğin plasmacytoid DH'ler TLR1, TLR6, TLR7, TLR9 ve TLR10 eksprese ederken, myeloid DH' ler TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8 ve TLR10 eksprese ederler (50). Farklı TLR' ler farklı PAMP' ları tanır ve farklı sinyaller ortaya çıkararak, DH' lerin farklı alt tiplere matürasyonuna neden olur. Bunun sonucunda ise ortaya çıkarılan immün yanıt değişir (50). TLR' ler, nükleer faktör-KB (NF-KB), mitojen ile aktive olan prot kinaz ve interferon regülatuar proteinlerini aktive ederek DH'de gen ekspresyonunu regüle eder (49).

C tipi lektin benzeri reseptörler ise patojenlerin yüzeyindeki karbonhidrat moleküllerini tanır ve DH'nin işleyip sunması için antijeni hücre içine alır (49). TLR' ler gibi, farklı DH alt tipleri farklı CLR'ler eksprese eder. Örneğin pDH' ler BDCA2 eksprese ederken dermal intDH' ler DC-SIGN eksprese ederler. CLR' ler sadece mikrobu DH' ye yapışması ve hücre içine alınmasında değil ayrıca DH' nin diğer hücreler ile interaksiyonunda da rol oynarlar. Örneğin DC-SIGN'ın nötrofiller tarafından eksprese edilen Mac-1 ve CEACAM-1 ile interaksiyonu sonucunda nötrofil aracılı DH aktivasyonu, endotel tarafından eksprese edilen ICAM-2 ile interaksiyonu sonucunda endotelden DH göçü ve T hücrelerce eksprese edilen ICAM-3 ile interaksiyonu sonucunda T hücre aktivasyonu gerçekleşir (50).

İntraselüler mikrobiyal ürünleri tanıyan NLR' ler, proinflamatuvar sitokin salınımı ile sonuçlanan sinyal yollarını tetikler (50).

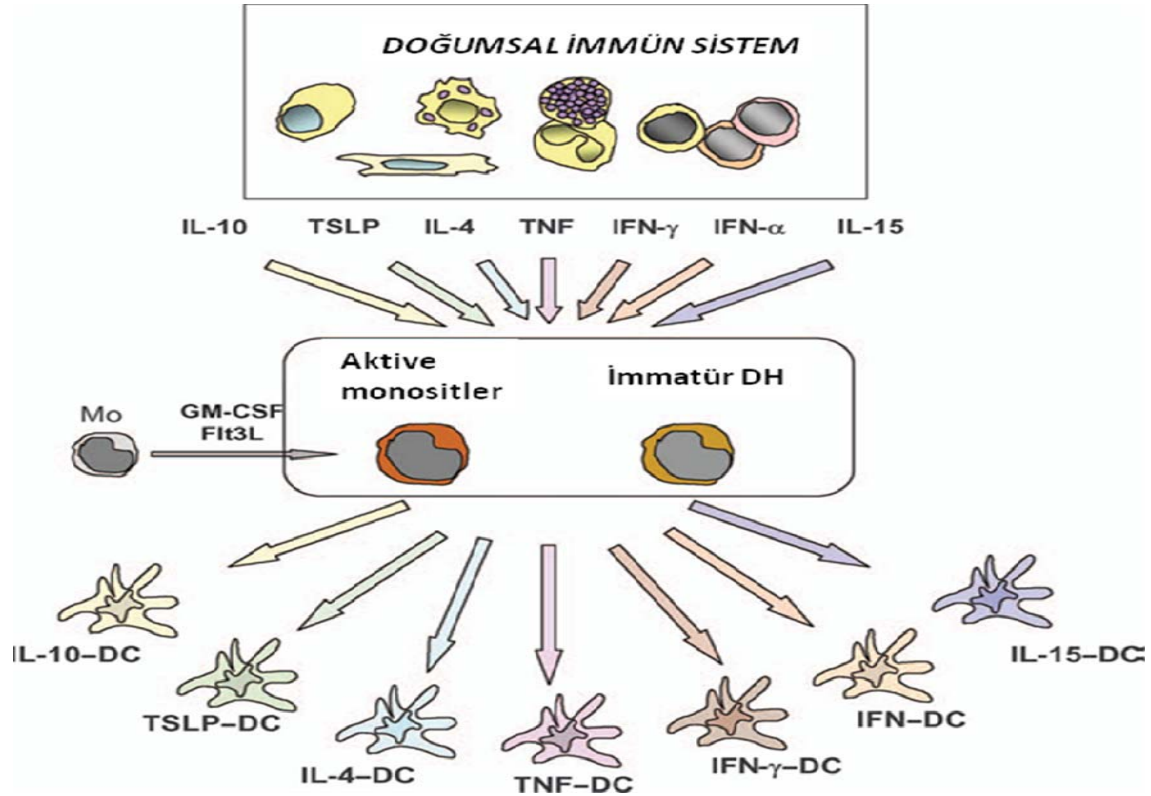
DH tarafından eksprese edilen bu PPR'lerin temel işlevi uygun T hücre yanıtını indüklemek için antijenin doğası konusunda bilgi toplamaktır (49). Bu nedenle inflamatuvar sitokinler DH üzerinde MHC ve kositümülatuar molekül ekspresyonunu arttırmasına

karşın T hücre diferansiasyonu için patojen ile karşılaşma gereklidir (49). Bir başka deyişle inflamatuvar sitokinler adaptif immün yanıtı artırır ancak başlatılmak için PPR ler tarafından patojenin tanınmasına gerek vardır.

Toll Like Reseptörler ve CLR dışında DH, birçok sitokin ve kemokin reseptörü, Fc ve kompleman reseptörü ekspres eder (49).

Ölen hücrelerin parçaları da DH aktivasyonunda rol oynar (50). Bu aktive edici endojen moleküllere hasar-ilişkili moleküler patern moleküller (damage-associated molecular pattern molecules-DAMP) adı verilir (50). DAMP' lar arasında heat shock proteinleri (HSP), yüksek mobilite grubu box-1 proteini (high mobility group box 1 protein-HMGB1),  $\beta$ -defensin ve urik asit yer alır (50). Bu moleküllerin TLR gibi lipopolisakkarit reseptörleri aracılığı ile DH aktivasyonuna rol oynar (50).

Farklı sitokinler tarafından uyarılarak aktive olan DH farklı fenotiplere dönüşür (50). Tip I IFN etkisi altında diferansiye olan DH, IFN-DH halini alır ve tip 1 T hücre yanıtını ve IL-12 yapımını indükler (50). TSLP etkisi altında diferansiye olan DH, TSLP-DH halini alır ve T hücre gelişimini tip 2 hücre yönünde değiştirir ve TNF yanında tip 2 sitokinlerin yapımını uyarır (50). IL-10 etkisi altında diferansiye olan IL10-DH ise IL-10 salgılayan Treg gelişimini destekler (50) (Resim 3).



Şekil 3. Doğal immün sistem hücreleri tarafından DH diferansiasyonunun yönetilmesi



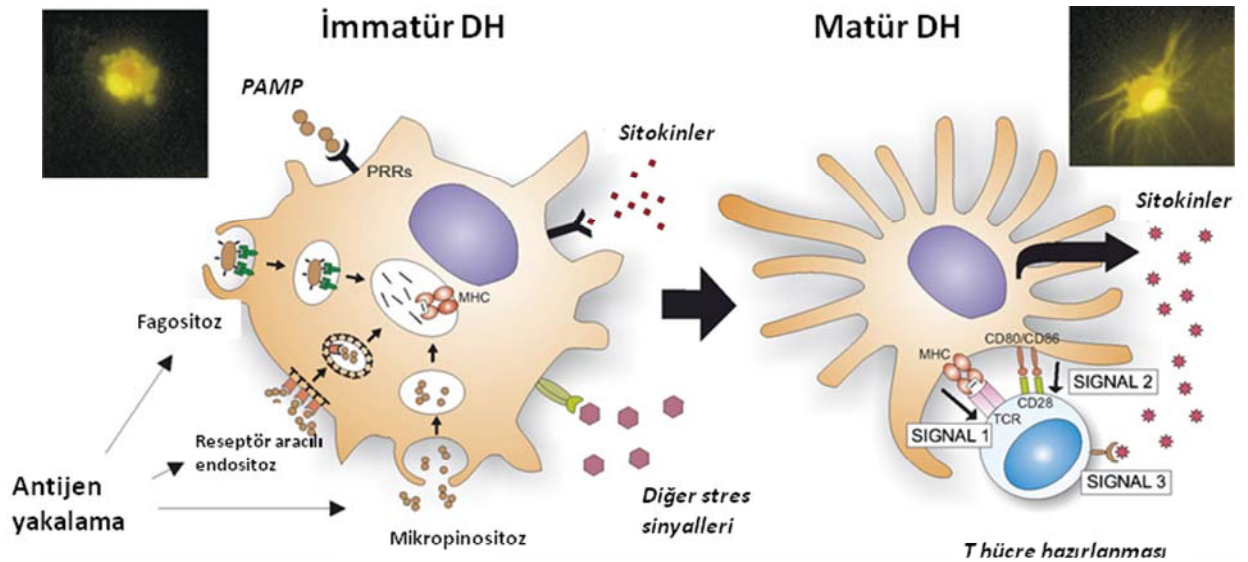
#### 2.4.4. Diğer Stres Sinyalleri Tarafından Foksiyonların Modülasyonu

İnflamatuar ortamların özelliği olan ekstraselüler asidoz DH'de endositozu, ekstraselüler antijenlerin MHCI tarafından sunulmak üzere alımını ve DH'lerin CD8<sup>+</sup>sitotoksik T lenfositleri uyarmasını artırır (49). Kininler,  $\beta$ 2-bradikinin reseptörünü aktive ederek DH' den IL-12 yapımını uyarır (49). Bradikinin tarafından düzenlenen bu IL-12 yanıtı anjiotensin konverting enzim ve endojen IL-10 tarafından regüle edilir (49).

Kompleman anafilatoksin C5a, TNF- $\alpha$  ve prostaglandin E2 (PGE2) aracılıklı mekanizmalar ile monositlerin DH'lere matürasyonunu indükler (49).

#### 2.4.5. Matürasyon Süreci

Dendritik hücrenin matürasyonu sürecinde CCR7 ekspresyonu olur. CCR7, lenf nodlarının T hücreden zengin bölgelerinde eksprese olan kemokinlerden CCL19 ve CCL21'in tanıyarak DH'nin lenf noduna göçünü sağlar (49). Matürasyon sürecinde DH'nin morfolojisinde değişiklikler olur; adhezif yapıları kaybeder, hücre iskeleti reorganize olur ve hücre motilitesi artar (50). Endositik ve fagositik reseptörler kaybolur (50). Bölgeye çekilmek istenen immün hücrenin tipine göre kemokin sekresyonu başlar ve CD40, CD80 ve CD86 gibi ko-stimulatuar moleküllerin hücre yüzeyinde ekspresyonu artar (50). MHCII hücre yüzeyine geçer ve bölgeye çekilen immün efektörü hücrelerin diferansiasyon ve polarizasyonunu sağlayacak sitokin sekresyonu başlar (50) (Resim 4).



Şekil 4. Dendritik hücrenin matürasyonu

#### 2.4.6. Diğer Doğal İmmün Sistem Hücreleriyle İlişkisi

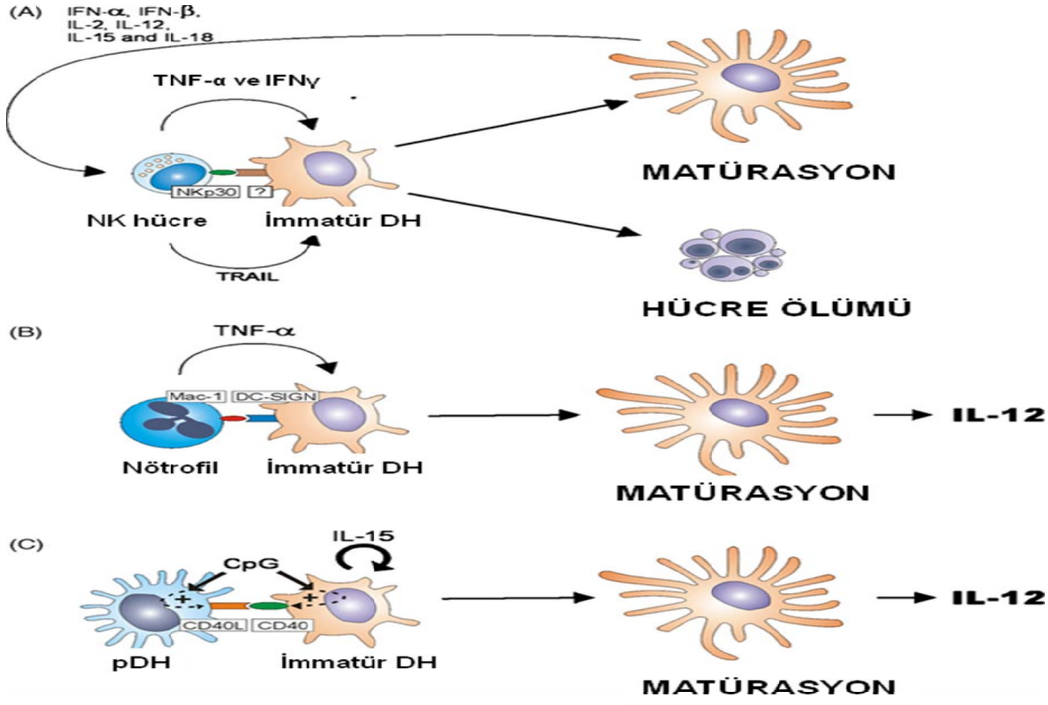
Dendritik hücre ve diğer doğumsal immün sistem hücreleri arasında sekonder lenfoid organlarda ve inflama periferel dokularda karşılıklı ilişki vardır (49). Ayrıca, DH' ler farklı kemokinler salgılayarak diğer immün sistem hücrelerini etkiler (50). Aktivasyon sonrası ilk salgılanan kemokinler CXCL1, CXCL2 ve CXCL3 NK hücrelerini, CXCL8 ise nötrofilleri ortama çeker (50). Bunlardan daha sonra salgılanan CXCL9-11 ve CCL3-5 bellek T hücreleri ve monositlerin göçüne neden olur (50). En geç dönemde ise, sekonder lenf organlarına ulaşan DH, CXCL13 salgılayarak humoral yanıtın özelleşmiş hücreleri olan B ve T hücreleri, CCL19 ve CCL21 salgılayarak naif T hücreleri ve CCL22 salgılayarak immün yanıtın sonlandırılmasında görev alan regülatuar T hücreleri ortama çeker (50).

Dendritik hücrenin karşılıklı interaksiyonu olan hücrelerden biri, özellikle tümör hücrelerini daha önce herhangi bir duyarlanma olmadan yok eden doğal öldürücü hücrelerdir (natural killer cells-NK) (49). NK hücrelerin hedef hücreleri öldürmesi sonucunda  $INF\gamma$ ,  $TNF-\alpha$ , Granülosit monosit-koloni stimulan faktör (GM-CSF) ve diğer kemokinler salınır (49). Bu sinyaller DH'lerin matürasyonunu ve Th1 yönünde immün yanıtı arttırmasını sağlar (49,50). Ayrıca NK hücrelerinden salgılanan HMGB-1 de DH aktivasyonunu indükler (50). NK hücreler matüre olmayan DH' leri öldürür ve böylece de sadece matür DH tarafından antijen sunumunu destekler (49). NK hücrelerinin aktivasyonu sekonder lenfoid organlarda DH ile interaksiyonuna bağımlıdır ve DH' ler ise IL2, IL12, IL18, IL15 ve tip 1 IFN salınımı ile NK hücre fonksiyonlarını tetikler (49,50).

Dendritik hücrenin karşılıklı ilişkide bulunduğu diğer bir doğal immün sistem elemanı olan CD1 kısıtlı  $\gamma\delta T$  hücreleri, hem  $TNF\alpha$  yapımı hem de doğrudan hücre teması ile DH matürasyonunu indükler.

Nötrofiller üzerindeki B2 integrin Mac-1'in, DH üzerindeki DC-SIGN ile interaksiyonu sonucunda DH aktivasyonu ve nötrofillerden  $TNF\alpha$  yapımı ve  $CD4^+T$  hücrelerin Th1 yönünde farklılaşması sağlanır (49,50). Nötrofillerin salgıladığı  $\beta$ -defensinler de DH matürasyonuna katkıda bulunur (50).

Konvensiyonel ve plasmacytoid DH' lerin CD40/CD40L sistemi aracılığı ile interaksiyonu DH tarafından IL12 yapımını uyarır (49) (Resim 5).



**Şekil 5.** DH ve diğer doğal immün sistem hücreleri arasındaki karşılıklı ilişki

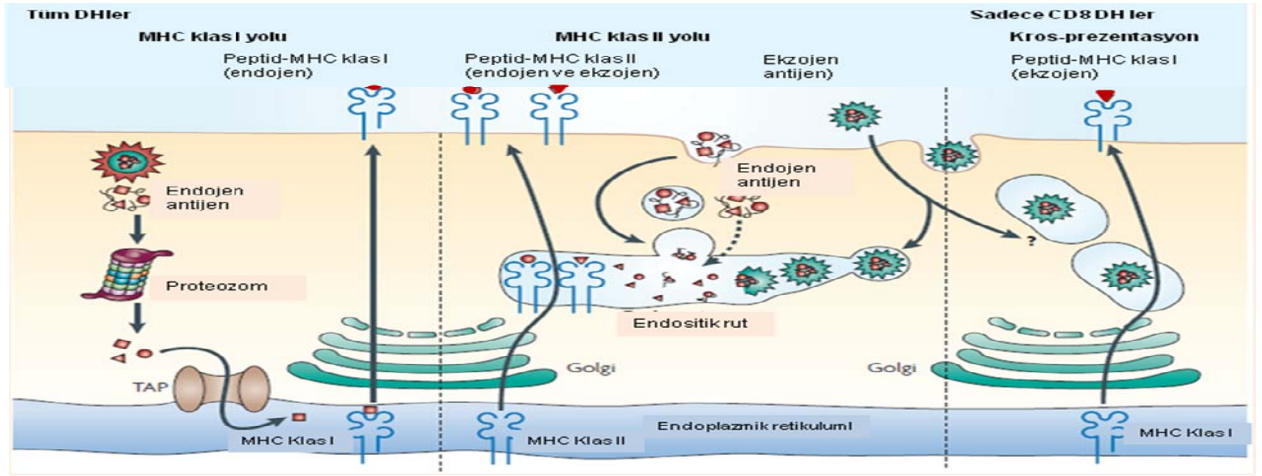
Mukozal DH' ler  $CD4^+$ T hücrelerin Th2 hücelere farklılaşmasını ve B hüceler tarafından IgA yapımını indüklerler (49). Mukozal DH' ler ya kendi özellikleri nedeni ile ya da mukozal mikroçevre nedeni ile noninflamatuvar bir çevre sağlarlar. Epitel hücelerinin salgıladığı TSLP noninflamatuvar DH indüksiyonuna neden olur (49). Noninflamatuvar DH ise Th2 polarizasyonunu sağlar (49).

#### 2.4.7. Adaptif İmmün Yanıt Hüceleriyle İlişkisi ve Antijen Sunumu

Dendritik hücre matüre olduktan sonra naif T hüceleri aktive eder, klonal genişlemeyi sağlar ve yeni aktive olan T hücelerin efektör hücelere diferansiasyonunu sağlar (49). DH lenfositler üzerine temel olarak sitokinler, B7 ailesi üyeleri ve TNF ailesi üyeleri olan moleküller aracılığıyla etki eder (50). Ancak T hücelere antijen prezentasyonundaki bu süreçte antijenlerin MHC molekülleri tarafından sunulacak olan peptid parçalarına yıkılması gerekir (51). MHCI molekülleri tarafından sunulacak olan peptidlerin kaynağı olan proteinler sitozolde proteozomlar aracılığı ile, MHCII tarafından sunulacak olan peptidlerin kaynağı olan proteinler ise endozomal kompartmanlarda katapsinler ve diğer hidrolitik enzimler tarafından yıkılır (51).

Tüm DH tipleri endojen antijenleri etkin biçimde sunar (51). Ekzojen antijenlerin prezentasyonu, hücelerin bu antijenleri uygun işleme kompartmanlarına yönlendirmesini gerektirir (51). Ekzojen antijenler öncelikle pinositoz, fagositoz ya da reseptör aracılı

endositoz ile hücre içine alınarak endozomal proteazlar tarafından işlenir (62). İşlenmiş olan antijenler MHC-II molekülleri tarafından sunulur. DH' ler bu antijenleri MHC-I molekülleri tarafından da sunabilir ve buna kros-prezentasyon adı verilir (63) (Resim 6).



Şekil 6. DH' lerdeki antijen sunum yolları

Farklı DH alt grupları antijen yakalamada farklı mekanizmalar kullandığı için fonksiyonel özellikler sağlar (51). Lenfoid organlarda yerleşik CD8<sup>+</sup> DH' ler en etkin şekilde ölü hücreleri fagosite eder ve hem MHC-II ile hem de MHC-I ile kros-prezentasyon yapar (64,65). CD8<sup>+</sup>DH' ler ayrıca viral antijenlerin sunumu sonucunda CD8 T hücre gelişiminde de önemlidir (66). CD8<sup>-</sup>DH' ler ise ekzojen antijenleri, özellikle C-tipi lektin reseptörleri ile yakalanmış antijenleri, MHC-II ile sunmada CD8<sup>+</sup> DH' lerden daha etkindir (67).

Matür DH naif T hücreleri üç farklı sinyal ile aktive eder (49):

1. T hücre reseptörünün, DH üzerindeki peptid-MHC kompleksi tarafından bağlanması
2. CD28' in DH üzerindeki CD80 ve CD86 ile interaksyonu sonucunda ko-stimülasyon
3. T hücrelerin efektör hücrelere diferansiasyonu için farklı sitokinlerin salınması (49).

DH tarafından IL-12, IL-18 ve IFN  $\alpha$  salınması durumunda Th1, IFN $\gamma$  salınması durumunda sitotoksik T hücre, IL-4, IL-5 ve IL-13 salgılanması durumunda ise Th2 hücre diferansiasyonu olur (49). IL-12 ailesinden olan bir diğer sitokin IL-23 salgılanması ise T hücrelerin, inflamasyon ile ilişkili Th17 yönünde farklılaşarak IL-17 salgılanmasını indükler (50). Th17 hücrelerinin farklılaşması için ayrıca IL-1 ve IL-6 etkisine gerek vardır (50). Bunun tersine IL-27, antiinflamatuvar bir sitokin olarak Th17 diferansiasyonunu inhibe etme yönünde işlev görür (50).

B7 ailesinin üyeleri olan moleküller T hücre aracılı İmmünite ve toleransın regülasyonu için gereklidir (50). Bu ailenin üyeleri; CD80, CD86, indüklenebilir kostimülatur ligand (ICOSL), programlanmış ölüm ligandı 1 (PD-L1), PD-L2, B7-H3 ve B7-H4'ten oluşur ve tümü DH ve makrofajlar üzerinde eksprese edilir (50).

Tümör nekrozis faktör ve CD40 ligasyonu DH aktivatörleridir (50). CD40 interaksiyonu DH'de CD80 ve CD86 ekspresyonunu artırır ve IL-12 salgılanmasını sağlar (50). Ayrıca, CD40 ligasyonu DH üzerinde diğer TNF aile üyelerinden CD70, 4-1BBL ve OX40L ekspresyonunu artırır (50). OX40L eksprese eden DH T hücre yanıtının tip 2 yönünde polarizasyonunu indükler (50). CD70 naif CD8 T hücrelerin uyarılması ve IFN- $\gamma$  salgılayan sitotoksik T lenfositler ya da bellek T hücrelerin diferansiasyonu için gereklidir (50). DH tarafından eksprese edilen bazı diğer TNF ailesi moleküller ise B hücre diferansiasyonu ve aktivasyonu için gereklidir (50). DH yüzeyinde, TNF ailesine ait B hücre aktive eden faktör (B cell activating factor belonging to the TNF family-BAFF) ekspresyonu tip I ve II IFN ve lipopolisakkaritlere yanıt olarak artar (50). BAFF' ın B hücre yüzeyindeki reseptörleri ile interaksiyonu, B hücrenin yaşamasını ve antikor salgılayan plazma hücrelerine diferansiasyonunu sağlamanın yanında izotip sınıf değişimini de indükler (50).

Bazıları farklı DH alt tiplerinin farklı T hücre tipi diferansiasyonuna neden olduğunu savunmaktadır (68). Akciğer DH' lerinin IL-6 salgılamaları nedeni ile IL-12 yapımını baskıladıkları bu nedenle de Th1 yerine Th2 yönünde polarizasyona neden oldukları, buna karşın dalak kökenli DH' lerin IL-6 salınımının az olması nedeni ile Th1 tipi yanıtı indükledikleri öne sürülmüştür (68). Farklı T hücre polarizasyonu için bir diğer açıklama da DH in yüksek derece plastisite gösterdiğini ve dışarıdan gelen sinyaller doğrultusunda aynı DH grubunun farklı T hücre grubuna diferansiasyona neden olabileceğidir (49).

Özel dokulardaki DH' ler, T hücrelerin o dokuya göçünü sağlar (50). Örneğin mezenterik Lenf nodlarından alınan DH' ler, CD8 T hücrelerin bağırsaklara migrasyonunu sağlar (50).

Periferde sinyal yokluğunda DH kişinin kendi antijenlerine toleransı indükler (50).

#### **2.4.8. Allerji ve Astımda Rolü**

Allerjik yangı, IL-4, IL-5 ve IL-13 gibi Th2 sitokinlerin aşırı yapımına neden olan komplike bir immunolojik kaskadın sonucudur (69). Bu allerjik yanığı sonuç olarak IgE antikorlarının yapımı ve eozinofili ve mukus yapımına neden olur (69). DH immatür

evrede aldığı sinyalin tipine bağlı olarak, Th1, Th2 ve Th17 gibi T hücre yanıtlarının tipini belirlemede önemli rol oynar (69).

Hava yolundaki zararsız antijenlere karşı gelişen toleransta DH'lerin rolü olduğu düşünülmektedir (58). Bu antijenlerin akciğerdeki DH'leri tam aktive edemediği için etkin bir T hücre yanıtı ortaya çıkarmadığı öne sürülmektedir (58). Ayrıca bu tam matüre olamamış DH'lerin, IL-10 ve ICOSL bağımlı olarak IL-10 ve TGF- $\beta$  salgılayan regülatuar T hücreleri indükleyebileceği de öne sürülmektedir (58). pDH'ler de ICOSL eksprese ederler ve böylece regülatuar T hücre diferansiasyonunu indüklerler (50,58). Fare modeli ile yapılan çalışmalarda, alerjen ile karşılaşmada pDH'lerin olmadığı durumda astım belirtilerinin ortaya çıktığı gösterilmiştir (70). Bu sonuç, akciğerdeki pDH'lerin normalde zararsız olan tolerojenik protein antijenlere karşı duyarlanmayı önlediğini düşündürmektedir (70). Akciğerdeki pDH'lerin naif T hücrelerin mDH tarafından sunulan antijene yanıt olarak efektör fonksiyonlarının gelişimini engellemenin yanında Treg yanıtını da indüklediği gösterilmiştir (70).

Allerji varlığında tolerans yerine T hücre gelişimi Th2 yönünde polarizasyon gösterir ve buna mDH'ler kritik rol oynar. mDH'ler hem sekonder lenfoid organlarda Th2 hücre diferansiasyonu hem de inflamatuvar bölgelerde Th2 hücrelerin aktivasyonu için gereklidir (71-73).

Allerjik riniti olan hastalarda nazal mukozada aktive DH miktarının kontrol grubuna göre belirgin artmış olduğu gösterilmiştir (71). Bu dendritik hücrelerin tiplendirmesi sonucunda, mDH'ler tarafından ekspresyonu yüksek olan CD11c<sup>+</sup> olan DH'lerin AR grubunda kontrol grubuna göre anlamlı yüksek olduğu gösterilmiştir (71). Ancak benzer farklılık, pDH göstergesi olan CD123<sup>+</sup> DH açısından gösterilememiştir (71). Bununla birlikte CD11c<sup>+</sup> olan DH'lerin, önemli bir T hücre kostimulatuar molekülü olan CD86 ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (71). CD11c<sup>+</sup> olan DH'lerin yok edildiği hayvan modelinde ise AR bulgularını kaybaldığı gösterilmiştir (71). Tüm bunlar AR patogenezinde DH'nin kritik rol oynadığını düşündürmektedir (71).

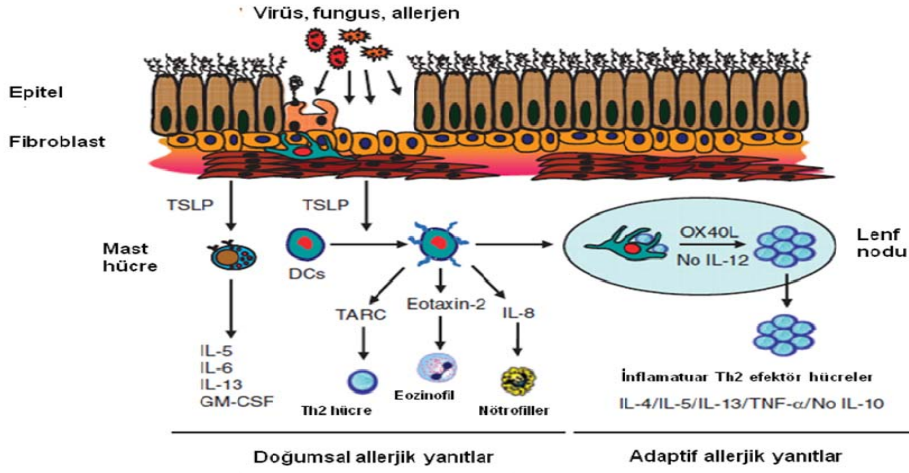
Hem atopik astım hem de nonatopik astımda hava yolundaki inflamasyon Th2 T hücre fenotipi ile uyumlu olarak IL-4, IL-5, IL-13 ve TNF salgılanması tipiktir (74). Th2 hücreler eozinofil ve mast hücre göçü ve yaşamını infükleyerek, goblet hücre hiperplazisi ve bronş hiperreaktivitesine neden olarak astım patogenezinde belirgin rol oynar (58). Ancak, astım klinik bulguları hem genetik hem çevresel birçok faktörden etkilenmektedir. Astıma duyarlanma ve progresyonda doğal immün hücreler, epitel hücreleri ve adaptif

immün sistem indüksiyonu arasındaki ince denge önemlidir (58). Doğal ve adaptif immün sistem arasında köprü görevi gören önemli bir hücre grubunu da DH' ler oluşturur (58). Normalde hava yolundaki alerjenle tam aktive olmayan DH' nin lenf noduna göçü sonrasında T hücrelerde abortif yanıt oluşturduğu ve tolerans gelişimine katkıda bulunduğu bilinmektedir. Ancak, alerjen içinde TLR agonisti ya da proteolitik enzimatik aktivite bulunduğu DH aktivasyonu indüklenir (58). DH aktivasyonu sadece doğrudan alerjen aracılığı ile değil ayrıca epitel hücreleri aracılığı ile de gerçekleşir (75). Epitel hücreleri üzerindeki TLR gibi PRR' lerin antijenle bağlanması sonucunda nötrofil, monosit ve DH' lerin hava yoluna göçüne neden olan kemokin yapımı ve DH aktivasyonuna neden olan sitokin salınımı gerçekleşir (75). Hava yolu epiteli tarafından salınıp DH aktivasyonunda rol oynayan sitokinler arasında TSLP, GM-CSF, IL-1 $\beta$ , IL-33 ve IL-25 sayılabilir (58). Bu aktif matür DH' lerin lenf noduna göçü sonucunda ise Th2 yanıt indüklenerek astım bulguları ortaya çıkar (58).

Astım fare modeli çalışmalarında, alerjen ile uyarı sonrasında bronkoalveoler sıvıda CD11b<sup>+</sup>CD11c<sup>+</sup>DH'lerin anlamlı arttığı gösterilmiştir (72). Ayrıca hava yolu inflamasyonu olan farelerde, bronkoalveoler lavajdaki CD11c<sup>+</sup>DH'lerin kostimulatuar moleküllerden CD80, ICAN-1, CD40, PDL1 ve PDL2 ekspresyonunun arttığı saptanmıştır ve bunların dokuda CD4 T hücreler tarafından sarılmış olduğu gösterilmiştir (73). Daha ileri incelemelerde CD11c<sup>+</sup> DH'lerin yok edildiğinde astım bulgularının da kaybolduğu saptanarak akciğerdeki DH'lerin, hava yolu inflamasyonu sırasında Th2 hücre stimülasyonu için gerekli ve yeterli proinflamatuvar hücreler olduğu sonucuna varılmıştır (73). Fare astım modelinde yapılan bir başka çalışmada, hava yolunda bulunan DH'lerin aerosol uyarısı sonrasında antijen sunan hücelere matüre olduğu ve CD86 yüzey antijen ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (76). Bu sonuçlar da astımda lokal hava yolu T hücrelerin aktivasyonunda DH' nin rolü olduğunu düşündürmektedir (76).

Allerjik inflamatuvar bölgelerdeki epitel ve keratinositler tarafından salınan ve IL-7 ailesinin bir üyesi olan TSLP, DH tarafından OX40L ekspresyonunu artırıp IL-12 ailesinden olan moleküllerin artışına neden olmayarak Th2 tipi inflamatuvar yanıtı indükler (69). IL4 ve IL-13 gibi Th2 sitokinleri ile birlikte TNF ve IL-1 $\beta$ , TSLP salınımını artırır (77). TSLP reseptörünü en yüksek düzeylerde eksprese eden hücre tipi mDH'dir, bu nedenle de epitelyum kaynaklı bu sitokinin en önemli yanıt veren hücre grubunu oluşturdukları düşünülmektedir (77). TSLP ile uyarıya yanıt olarak DH'lerin yüzeyinde MHC-II, CD40, CD80, CD86 ve DC-lamp ekspresyonu artar ve mDH'lerden eotaksin-2,

IL-8, TARC ve I-308 salınımı olur (77). Bu kemokinler eozinofil, nötrofil ve Th2 hücrelerin bölgeye göçünü sağlar (77). Ayrıca TSLP dolaşımdaki Th2 bellek hücrelerinin artışı indükler (78-81). TSLP tarafından indüklenen DH'ler foxp3<sup>+</sup> regülatuar T hücre diferansiasyonunda da rol oynar (81) (Resim 5). DH, CD80/86 ekspresyon ve IL-2 bağımlı olarak Treg artışı sağlar (82). Ayrıca ekzojen TGF-β varlığında DH, fox p3<sup>-</sup> öncül hücreden fox p3<sup>+</sup> Treg oluşumunu indükler (82) (Resim 7).



**Şekil 7.** Doğal ve adaptif immün yanıtta TSLP'nin rolü

Dendritik hücre, alerjiden sorumlu diğer birçok efektör hücre ile de ilişkilidir (57). Alerjen ile uyarılmış mDH'lerin akciğerlere eozinofil birikimine neden olduğu gösterilmiştir (83). Bunun nedenlerinden biri DH tarafından uyarılan Th2 tipi immün yanıtın sonucunda artan IL-4 ve IL-5 sitokinleridir (83). Hem hava yolu hiperreaktivitesinde hem de remodelling gelişiminde rol oynayan mast hücreler salgıladıkları histamin benzeri medyatörler aracılığı ile DH matürasyon ve aktivasyonunu uyarırlar (84,85).



### III. GEREÇLER VE YÖNTEM

#### **Çalışma Grubu**

Çalışmaya yaşları 5-17 arasında olan toplam 80 çocuk ( erkek, kız) alındı. Çalışmaya alınan çocuklar nonatopik kontrol, atopik astım, AR ve astımla AR birlikteliği olan grup olmak üzere dört grupta incelendi.

#### **Çalışmaya Alınma Kriterleri**

##### ***Grup 1. Kontrol Grubu***

Kontrol grubuna deri prik testi negatifliği ile alerjen duyarlılığı ekarte edilmiş, herhangi bir kronik hastalığı olmayan, yaşları 5-14 yaş arasında değişen 9 erkek 11 kız toplam 20 çocuk alındı.

##### ***Grup 2. Allerjik Rinit Grubu***

Mevsimsel ya da perennial burunda akıntı, kaşıntı, tıkanıklık, hışırtı ve/veya gözlerde yanma, kızarma ve kaşıntı bulguları olup yapılan deri prik testinde polen duyarlılığı saptanan, 5.5-17 yaş arasındaki, 12 erkek 11 kız toplam 23 çocuk allerjik rinokonjonktivit grubunu oluşturdu (2). Yineleyen bronşiolit, hırıltı, nefes darlığı öyküsü olanlar bu gruptan dışlandı.

##### ***Grup 3. Allerjik Astım Grubu***

Bu gruptaki 10 erkek 8 kız toplam 18 hastada astım tanısı yineleyen hışırtı, nefes darlığı ve öksürük gibi epizodik bronşial obstrüksiyon bulguları olması ve bu bulguların bronkodilatör tedaviyle reversibilite göstermesi ile koyuldu (31). Yaşları 5-15 arasında değişen çocukların tümünde deri prik testi ile polen duyarlılığı saptandı. Yaşları arasında değişen çocukların tümü ARK bulguları soruldu ve ARK bulguları olanlar bu gruptan dışlandı.

##### ***Grup 4. Allerjik Astım ve Rinit Birlikteliği olan Grup***

Allerjik astım ve rinit bulgularını birlikte gösteren, 6-14 yaşları arasındaki 8 erkek 11 kız toplam 19 hasta bu grupta yer aldı.

### **Çalışmaya Alınmama Kriterleri**

Çalışmaya katılmayı kabul etmeyen çocuklar çalışmadan dışlandı. Astım ya da AR bulgularına yönelik olarak son 3 ay içinde inhale, nazal ya da sistemik steroid, antihistaminik, montelukast gibi astım ya da AR bulgularına yönelik olarak antiinflamatuvar tedavi kullanmış çocuklar nazal lavaj sonuçlarının etkileneceği düşüncesi ile çalışmaya alınmadı.

### **Çalışma Planı**

Çalışmaya alınan tüm hastaların yaş ve cinsiyetleri kaydedildi. Bununla birlikte astım, AR ve astımla birlikte AR gruplarının klinik bulgularının ağırlığı ve bu belirtilerin başlangıç yaşı kaydedildi. Astımı olan ve solunum fonksiyon testine koopere olabilen çocuklara solunum fonksiyon testi yapıldı. Tüm çocuklara nazal lavaj uygulandı ve bu nazal lavaj sıvıları -80 °C’de saklandı. Nazal lavaj örneklerinde IL-1, IL-4, IL-6, IL-10, IL-13, IL-25, IFN $\gamma$ , ve TGF- $\beta$  düzeyleri ölçüldü.

Çalışma Celal Bayar Üniversitesi Etik Kurulu tarafından 2009 yılında onaylandı. Çalışmaya alınan tüm çocukların ailelerinden yazılı “bilgilendirilmiş onam” ve çocuklardan sözel onay alındı.

### **Hastalığın Ağırlığının Belirlenmesi**

Hastalık ağırlığının belirlenmesine yönelik olarak astımlı çocuklarda son 1 ayda hışıltı ya da göğüste sıkışıklık hissi sıklığı, öksürük ya da göğüste sıkışıklık nedeni ile uyanma sıklığı, sabah uyanma sonrasında astım belirti sıklığı ve fiziksel aktivite sırasında öksürük, hışıltı ya da göğüste sıkışıklık hissi nedeni ile rahatsızlık duyma sıklığı kaydedildi. Sıklık haftada 4-7 gün, haftada 1-3 gün, haftada birden daha nadir ve hiçbir zaman olarak sınıflandırıldı. Puanlama dört sorudan her biri için 0-3 arasında yapıldı ve puan artışı ağırlık artışını gösterdi (86).

Allerjik rinokonjonktivit ağırlığını belirlemek için T5 semptom skoru kullanıldı. Skorlama sırasında, burunda kaşıntı, burunda akıntı, hapşırık, burunda tıkanıklık ve gözlerde kaşıntı belirtilerinin her biri hasta tarafından “yok”, “hafif”, “orta” ve “ağır” olarak sınıflandırıldı. “Yok” “0”, “hafif” “1”, “orta” “2”, “ağır” “3” olarak puanlandı. Toplam puan 0-15 arasında değişti ve puan artışı hastalık ağırlığının artışını gösterdi (87).

### **Nazal Lavaj**

Nazal lavaj çocuk oturur pozisyonda iken ve başı yaklaşık 45 derece arkaya eğik halde iken uygulandı. Bir burun deliğinden 8F beslenme kateteri yaklaşık 2-3 cm ilerletilerek 10 mL ılık serum fizyolojik kateterden nazal kaviteye gönderildi. Ardından hastanın başını öne eğmesi istendi ve burun delikleri altına bir plastik kap yerleştirildi. Burun deliklerinden akan sıvı bu plastik kap içinde toplandı. Sonrasında aynı işlem diğer burun deliği için de yinelendi. Bu işlem her çocuk için yaklaşık 5-7 mL sıvı elde edilmesini sağladı (88,89).

### **Nazal Lavajda Sitokin Ölçümler**

Nazal lavaj IL-1 $\beta$  düzeyleri Elisa yöntemi ile Gen-Probe Diaclone (Besançon cedex, Fransa) kitleri ile çalışıldı. IL-1 $\beta$  için analitik sensitivite değeri 7 pg/ml idi. Kite ait intra-assay varyasyon katsayısı (CV) değerleri 239.9 pg/ml konsantrasyonda % 5.4; 61.7 pg/ml konsantrasyonda %5.7, inter-assay CV değerleri, 135.1 pg/ml konsantrasyonda %5.8; 27.9 pg/ml konsantrasyonda %7.3 olarak bulunmuştur.

Nazal lavaj IL-4 düzeyleri Elisa yöntemi ile Gen-Probe Diaclone (Besançon cedex, Fransa) kitleri ile çalışıldı. IL-4 için analitik sensitivite değeri 0.7 pg/ml idi. Kite ait intra-assay varyasyon katsayısı (CV) değerleri 20 pg/ml konsantrasyonda % 2,8; 11 pg/ml konsantrasyonda %5.4, inter-assay CV değerleri, 17 pg/ml konsantrasyonda %6,6; 11 pg/ml konsantrasyonda %11,1 olarak bulunmuştur

Nazal lavaj IL-6 düzeyleri Elisa yöntemi ile Gen-Probe Diaclone (Besançon cedex, Fransa) kitleri ile çalışıldı IL-6 için analitik sensitivite değeri 2 pg/ml idi. Kite ait intra-assay varyasyon katsayısı (CV) değerleri 77,1 pg/ml konsantrasyonda % 1,09; 61 pg/ml konsantrasyonda %7,63, inter-assay CV değerleri, 77 pg/ml konsantrasyonda %10,1; 63 pg/ml konsantrasyonda %8,8 olarak bulunmuştur.

Nazal lavaj IL-10 düzeyleri Elisa yöntemi ile Gen-Probe Diaclone (Besançon cedex, Fransa) kitleri ile çalışıldı. IL-10 için analitik sensitivite değeri 5 pg/ml idi. Kite ait intra-assay varyasyon katsayısı (CV) değerleri 96,9 pg/ml konsantrasyonda % 1,1; 63,1 pg/ml konsantrasyonda %1,5, inter-assay CV değerleri, 94,1 pg/ml konsantrasyonda %6.8; 58,3 pg/ml konsantrasyonda %8,6 olarak bulunmuştur

Nazal lavaj IL-13 düzeyleri Elisa yöntemi ile Gen-Probe Diaclone (Besançon cedex, Fransa) kitleri ile çalışıldı. IL-13 için analitik sensitivite değeri 1.5 pg/ml idi. Kite ait intra-assay varyasyon katsayısı (CV) değerleri 99,04 pg/ml konsantrasyonda % 0,48; 13,47

pg/ml konsantrasyonda %3,14, inter-assay CV değerleri, 99,95 pg/ml konsantrasyonda %1,43; 13,27 pg/ml konsantrasyonda %5,77 olarak bulunmuştur.

Nazal lavaj IL-25 düzeyleri Elisa yöntemi ile Gen-Probe Diaclone (Besançon cedex, Fransa) kitleri ile çalışıldı. IL-25 için analitik sensitivite değeri 15.63 pg/ml idi.

Nazal lavaj IFN- $\gamma$  düzeyleri Elisa yöntemi ile Gen-Probe Diaclone (Besançon cedex, Fransa) kitleri ile çalışıldı. IFN- $\gamma$  için analitik sensitivite değeri 5 pg/ml idi. Kite ait intra-assay varyasyon katsayısı (CV) değerleri 148 pg/ml konsantrasyonda % 2.3; 66 pg/ml konsantrasyonda %5.5, inter-assay CV değerleri, 138 pg/ml konsantrasyonda %8; 56 pg/ml konsantrasyonda %14 olarak bulunmuştur.

Nazal lavaj TGF- $\beta$ 1 düzeyleri Elisa yöntemi ile Gen-Probe Diaclone (Besançon cedex, Fransa) kitleri ile çalışıldı. TGF- $\beta$ 1 için analitik sensitivite değeri 9 pg/ml idi. Kite ait intra-assay varyasyon katsayısı (CV) değerleri 5427 pg/ml konsantrasyonda % 4.5; 3543 pg/ml konsantrasyonda %6.9, inter-assay CV değerleri, 5757 pg/ml konsantrasyonda %5.1; 3435 pg/ml konsantrasyonda %12.7 olarak bulunmuştur.

### **İstatistiksel Analiz**

İstatistiksel analiz SPSS 13.0 (Chicago IL) bilgisayar programı ile yapıldı. Grupların yaş ve cinsiyet özellikleri tanımlayıcı analiz ile belirlendi. Grupların nazal lavaj sitokin düzeylerinin karşılaştırılmasında parametrik ANOVA analizi kullanıldı. Analizin yorumlanmasında  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## IV. BULGULAR

### Çalışmaya Alınan Hasta Gruplarının Demografik Özellikleri

Bu çalışmaya yaşları 5-17 arasındaki (ortalama  $\pm$  standart sapma:  $10.0 \pm 2.9$  yıl) toplam 80 çocuk (39 erkek, 41 kız) alındı. Tüm hastalar 4 grupta incelendi. 1. grup allerjik olmayan kontrol grubu, 2. grup AR, 3. grup astım ve 4. grup astım ve AR birlikteliği olan çocuklardan oluştur. Cinsiyet açısından gruplar birbirine benzerdi ( $p=0.83$ ) (Tablo 1).

Birinci gruptaki 20 hastanın (9 erkek, 11 kız) yaş ortalaması  $9.2 \pm 2.8$  yıl, 2. gruptaki 23 hastanın (12 erkek, 11 kız) yaş ortalaması  $11.3 \pm 2.9$  yıl, 3. gruptaki 18 hastanın (10 erkek, 8 kız) yaş ortalaması  $9.7 \pm 3.3$  yıl, 4. gruptaki 19 hastanın (8 erkek, 11 kız) yaş ortalaması  $9.7 \pm 2.6$  yıl olarak bulundu. Gruplar arasında yaş ortalama anlamlı farklılık göstermedi ( $p=0.09$ ) (Tablo 1).

**Tablo 1.** Çalışmaya alınan çocukların demografik özellikleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	P
<b>Yaş</b>	$9.2 \pm 2.8$	$11.3 \pm 2.9$	$9.7 \pm 3.3$	$9.7 \pm 2.6$	0.09
<b>Cinsiyet</b>					
<b>Erkek</b>	45	52.2	55.6	42.1	0.83
<b>(%) Kız</b>	55	47.8	44.4	57.9	

### Allerjik Rinit ve Astımı olan Çocuklarda Hastalık Ağırılığı ile İlgili Değişkenler

Sadece AR'i olan çocuklarda bulguların başlama yaşı ortalama  $7.4 \pm 4.3$  yıldır. Benzer şekilde sadece astımı olan çocuklar ve astımla AR birlikteliği olan çocuklarda bulguların başlangıç yaşı sırası ile ortalama  $6.3 \pm 4.7$  ve  $6.5 \pm 3.9$  yıl olarak rapor edildi ve üç grup arasında bulguların başlangıç yaşı açısından anlamlı farklılık saptanmadı ( $p=0.81$ ).

Sadece astımı olan çocuklar ve astımla AR birlikteliği olan çocuklar astım semptom skoru açısından karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı farklılık bulunmadı (sırası ile  $5.4 \pm 3.2$  ve  $4.8 \pm 3.6$ ,  $p=0.46$ ).

Allerjik rinit semptom skoru sadece AR'i olan çocuklarda  $7.5 \pm 3.8$  iken astımla AR birlikteliği olan çocuklarda  $7.5 \pm 3.2$  bulundu ( $p=0.91$ ) (Tablo 2).

**Tablo 2.** Çalışmaya alınan hasta gruplarında hastalık ağırlığı değişkenleri

	Grup 2	Grup 3	Grup 4	P
<b>Bulguların başlangıç yaşı</b>	$7.4 \pm 4.3$	$6.3 \pm 4.7$	$6.5 \pm 3.9$	<b>0.81</b>
<b>Astım ağırlık skoru</b>	-	$5.4 \pm 3.2$	$4.8 \pm 3.6$	<b>0.46</b>
<b>T5SS skoru</b>	$7.5 \pm 3.8$	-	$7.5 \pm 3.2$	<b>0.91</b>

### Çalışmaya Alınan Tüm Grupların Nazal Lavajda Sitokin Düzeyleri

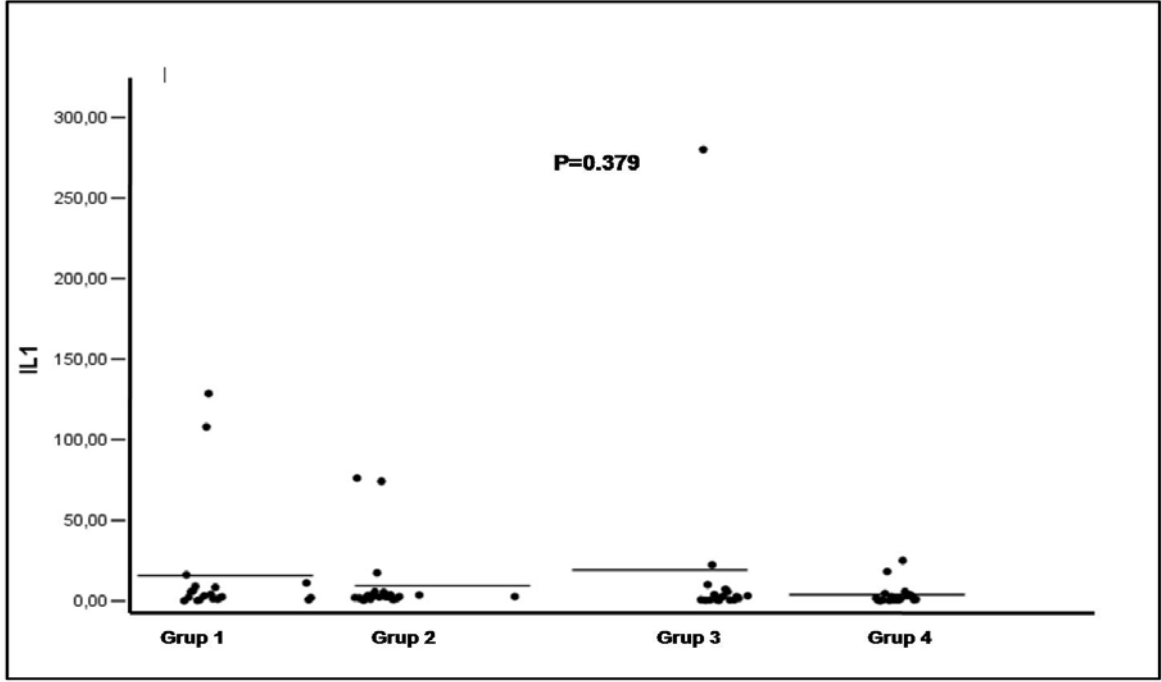
#### *Interlökin-1 Düzeyleri*

Nazal lavajda IL-1 düzeyi kontrol grubunda  $15.6 \pm 35.5$  pg/mL, AR grubunda  $9.4 \pm 21.0$  pg/mL, astım grubunda  $19.2 \pm 65.3$  pg/mL, astım ve AR birlikteliği olan grupta  $3.9 \pm 6.5$  pg/mL bulundu (Tablo 3) (Şekil 1).

**Tablo 3.** Çalışmaya alınan çocukların nazal lavajda sitokin düzeyleri

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4	P
<b>IL-1</b>	$15.6 \pm 35.5$	$9.4 \pm 21.0$	$19.2 \pm 65.3$	$3.9 \pm 6.5$	<b>0.379</b>
<b>IL-4</b>	$1.2 \pm 1.6$	$1.4 \pm 0.9$	$1.2 \pm 1.4$	$0.6 \pm 1.2$	<b>0.009*</b>
<b>IL-6</b>	$4.0 \pm 6.6$	$3.5 \pm 5.7$	$3.7 \pm 8.3$	$3.4 \pm 6.3$	<b>0.748</b>
<b>1L-10</b>	$1.9 \pm 3.9$	$1.5 \pm 1.1$	$1.1 \pm 1.4$	$1.8 \pm 1.3$	<b>0.126</b>
<b>1L-13</b>	$2.9 \pm 1.8$	$2.6 \pm 0.7$	$3.3 \pm 1.5$	$2.7 \pm 0.9$	<b>0.249</b>
<b>1L-25</b>	$1046.4 \pm 497.7$	$1011.9 \pm 602.9$	$585.5 \pm 308.7$	$884.5 \pm 576.8$	<b>0.028*</b>
<b>IFN<math>\gamma</math></b>	$22.6 \pm 29.8$	$23.9 \pm 22.9$	$27.8 \pm 16.4$	$13.6 \pm 13.6$	<b>0.009*</b>
<b>TGF<math>\beta</math></b>	$3.9 \pm 2.1$	$6.9 \pm 6.2$	$7.4 \pm 4.6$	$4.9 \pm 4.4$	<b>0.056</b>

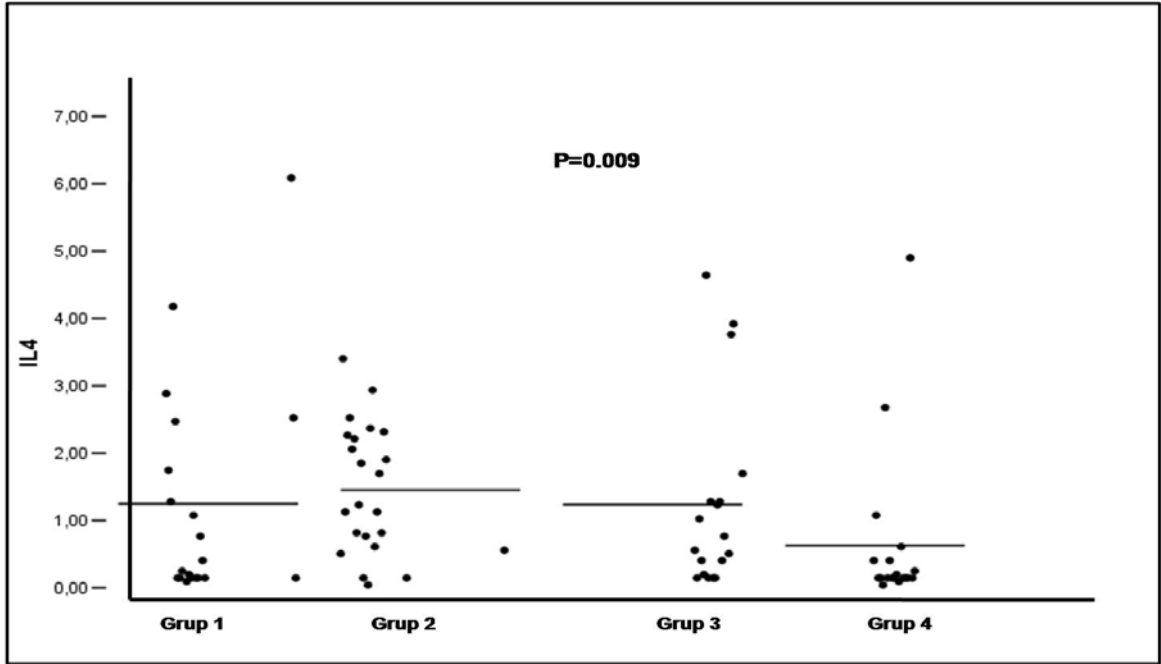
\*İstatistiksel anlamlı farklılık gösteren değerler



Şekil 8. Çalışma gruplarında interferon gama düzeyleri

#### *Interlökin-4 Düzeyleri*

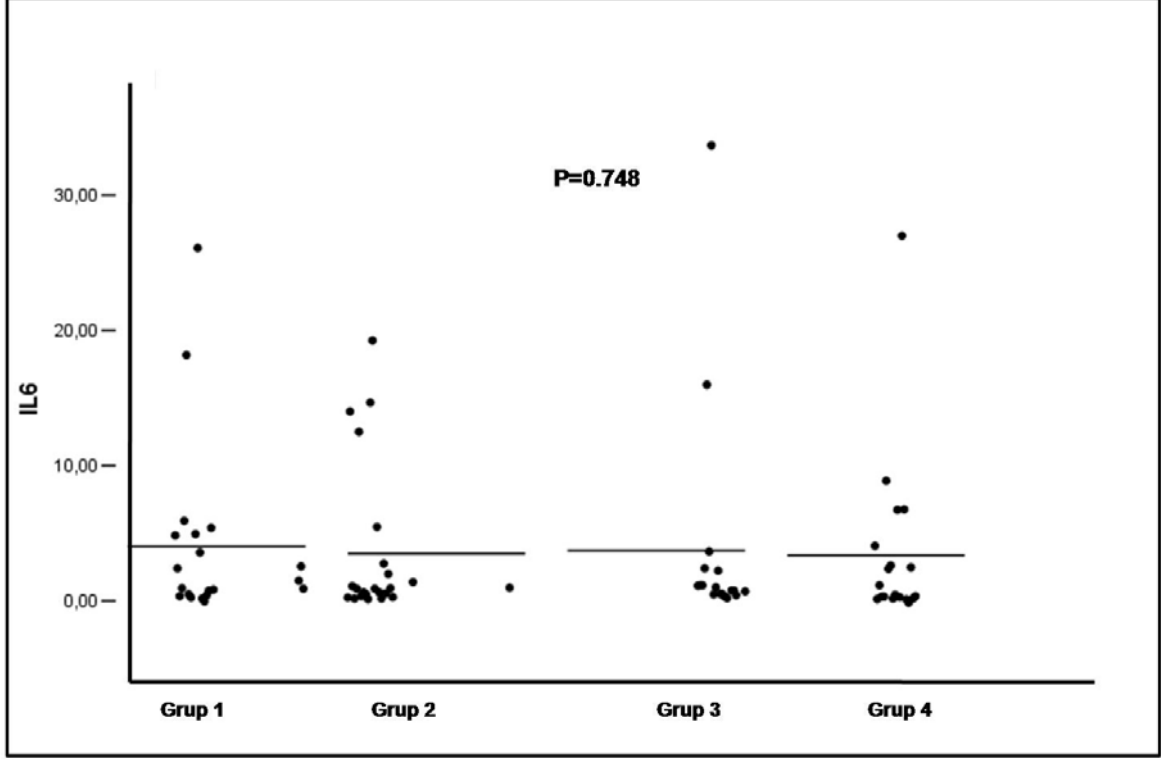
Kontrol grubunda nazal lavaj örneğinde IL-4 düzeyi  $1.2 \pm 1.6$  pg/mL iken AR ve astım gruplarında sırası ile  $1.4 \pm 0.9$  pg/mL ve  $1.2 \pm 1.4$  pg/mL saptandı. Astımla AR birlikteliği olan grupta ise IL-4 düzeyi  $0.6 \pm 1.2$  pg/mL idi (Tablo 3) (Şekil 9).



Şekil 9. Çalışma gruplarında interlökin-4 düzeyleri

### ***Interlökin-6 Düzeyleri***

Nazal lavaj IL-6 düzeyi kontrol grubunda  $4.0 \pm 6.6$  pg/mL, AR ve astım gruplarında sırası ile  $3.5 \pm 5.7$  pg/mL ve  $3.7 \pm 8.3$  pg/mL ölçüldü. Astımla AR birlikteliği olan grupta IL-6 düzeyi  $3.4 \pm 6.3$  pg/mL idi (Tablo 3) (Şekil 10).

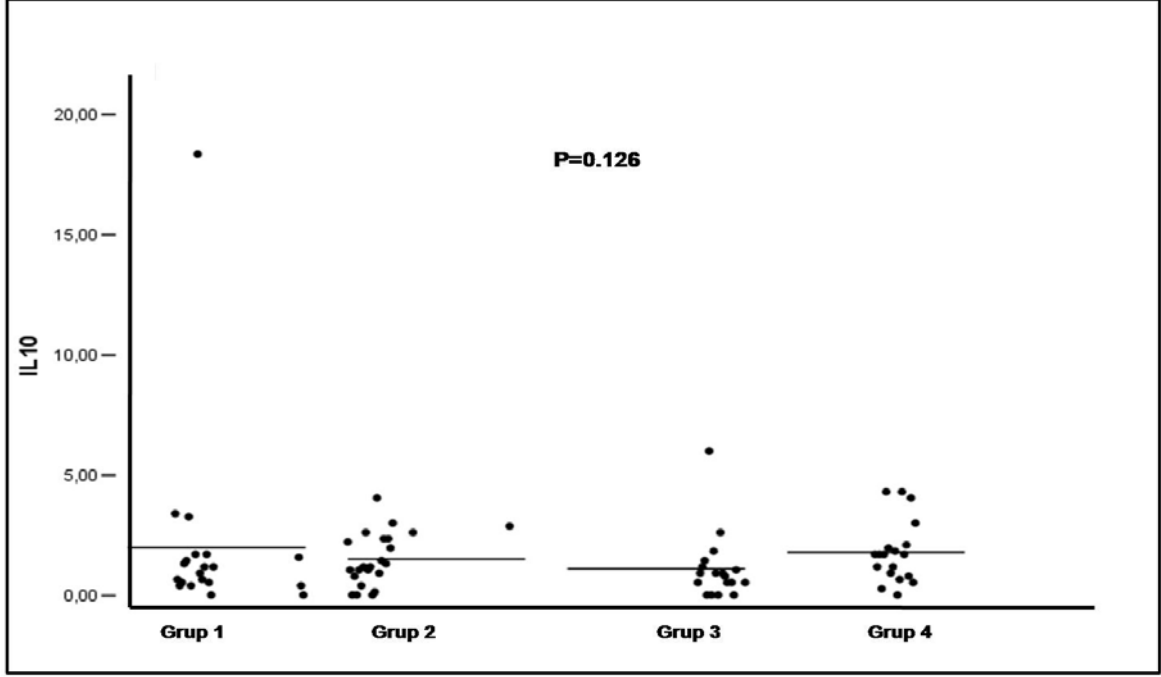


Şekil 10. Çalışma gruplarında interlökin-6 düzeyleri

### ***Interlökin-10 Düzeyleri***

Kontrol, AR ve astım gruplarında nazal lavaj IL-10 düzeyleri sırası ile  $1.9 \pm 3.9$  pg/mL,  $1.5 \pm 1.1$  pg/mL ve  $1.1 \pm 1.4$  pg/mL iken astımla AR birlikteliği olan grupta  $1.8 \pm 1.3$  pg/mL bulundu (Tablo 3) (Şekil 11).

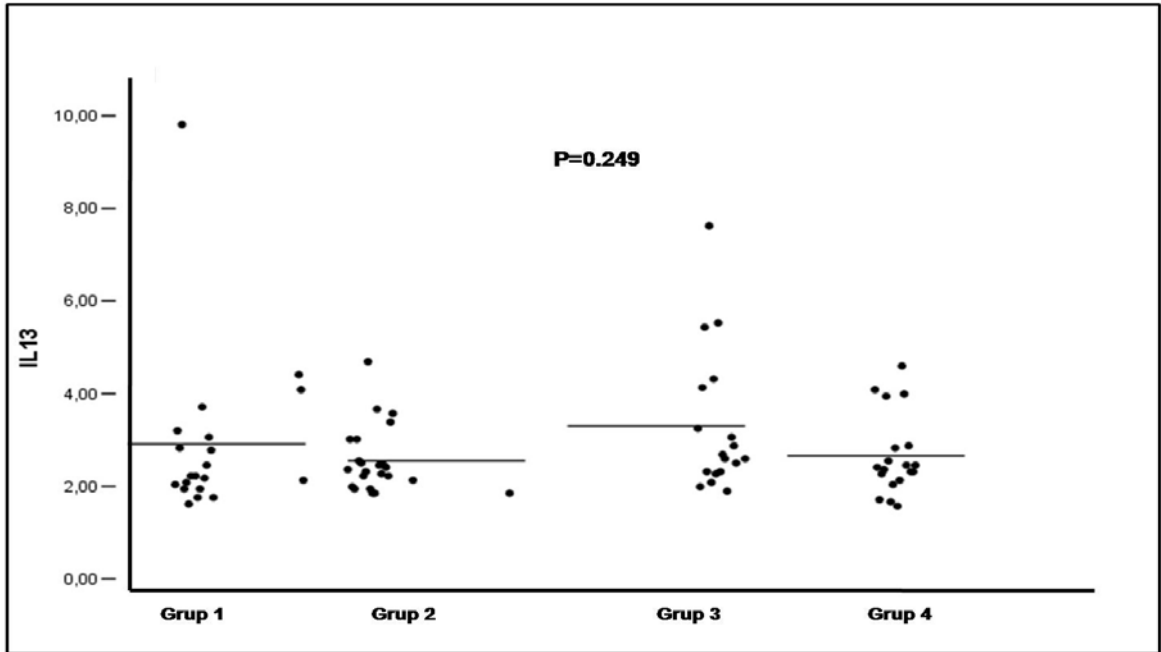




Şekil 11. Çalışma gruplarında interlökin-10 düzeyleri

### *Interlökin-13 Düzeyleri*

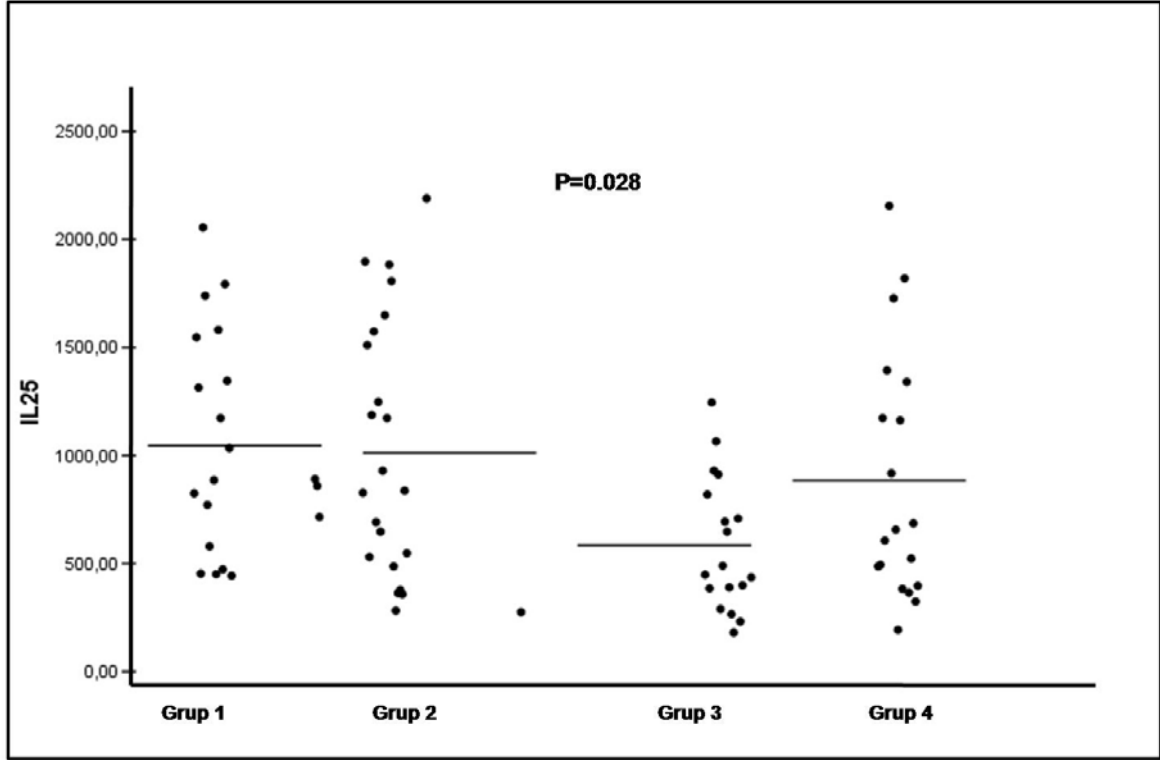
Nazal lavajda IL-13 düzeyleri kontrol grubunda  $2.9 \pm 1.8$  pg/mL, AR grubunda  $2.6 \pm 0.7$  pg/mL, astım grubunda  $3.3 \pm 1.5$  pg/mL, astımla AR birlikteliği olan grupta  $2.7 \pm 0.9$  pg/mL saptandı (Tablo 3) (Şekil 12).



Şekil 12. Çalışma gruplarında interlökin-13 düzeyleri

### ***İnterlökin-25 Düzeyleri***

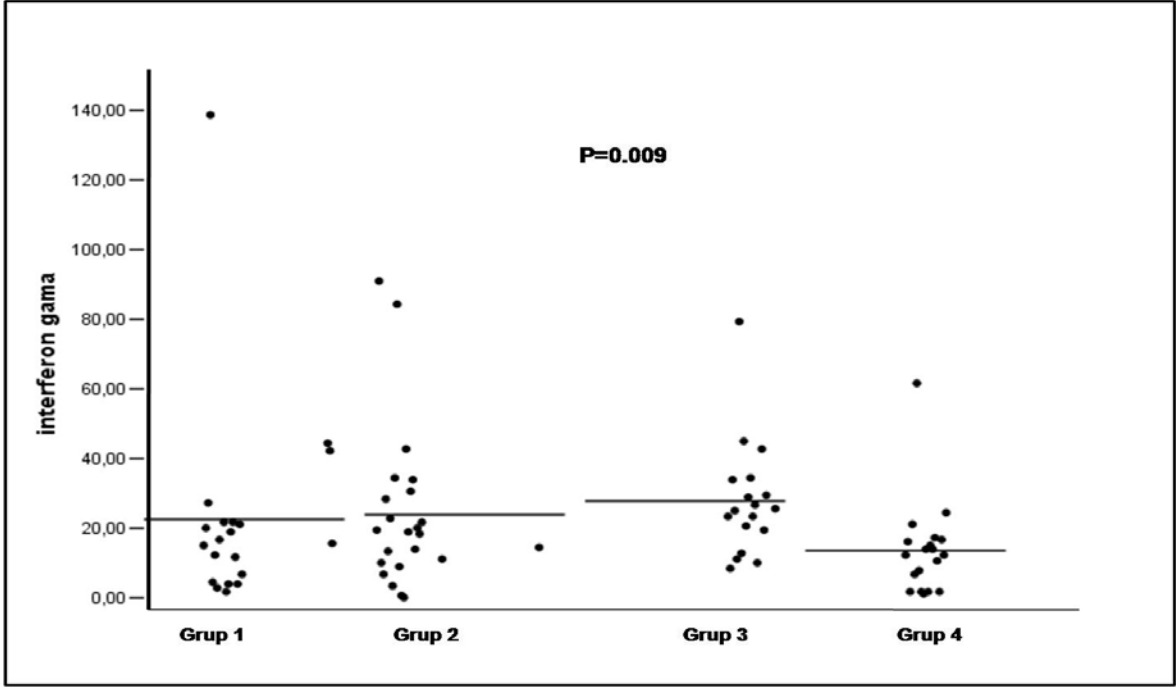
Kontrol grubunda nazal lavajda IL-25 düzeyi  $1046.4 \pm 497.7$  pg/mL iken AR ve astım gruplarında sırası ile  $1011.9 \pm 602.9$  pg/mL ve  $585.5 \pm 308.7$  pg/mL idi. Astımla AR birlikteliği olan grupta ise IL-25 düzeyi  $884.5 \pm 576.8$  pg/mL bulundu (Tablo 3) (Şekil 13).



Şekil 13. Çalışma gruplarında interlökin-25 düzeyleri

### ***İnterferon gamma Düzeyleri***

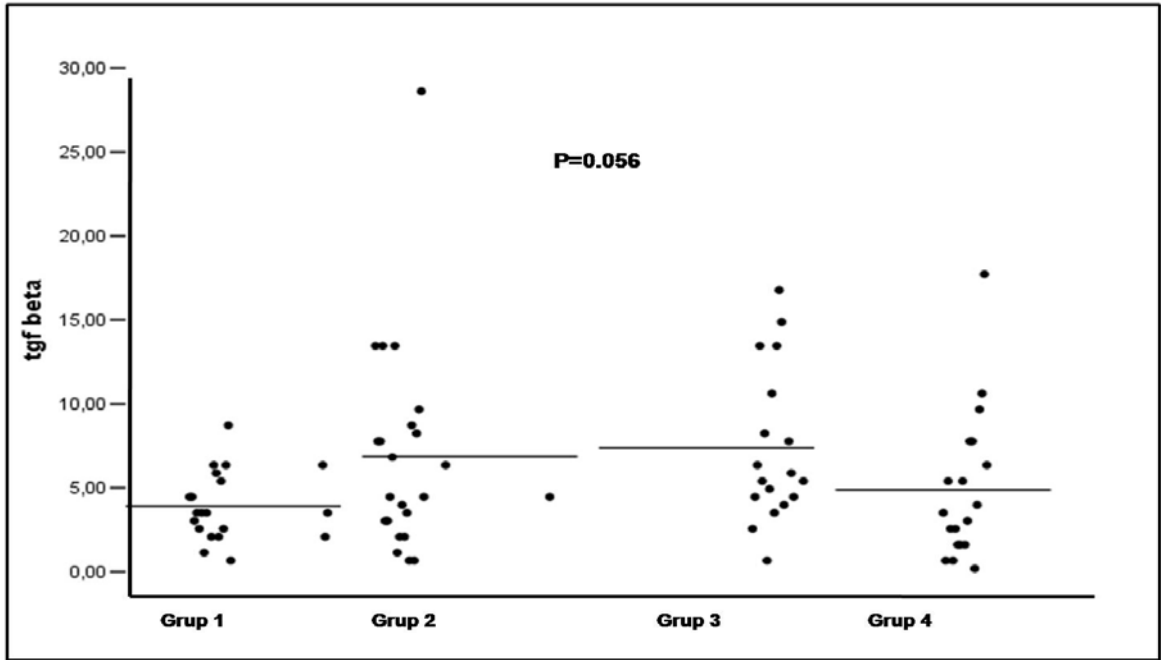
Nazal lavaj IFN $\gamma$  düzeyleri kontrol, AR ve astım gruplarında sırası ile  $22.6 \pm 29.8$  pg/mL,  $23.9 \pm 22.9$  pg/mL ve  $27.8 \pm 16.4$  pg/mL idi. Astımla AR birlikteliği olan grupta ise IFN $\gamma$  düzeyi  $13.6 \pm 13.6$  pg/mL ölçüldü (Tablo 3) (Şekil 14).



Şekil 14. Çalışma gruplarında interferon gama düzeyleri

### *Transforming Growth Faktör Beta Düzeyleri*

Nazal lavaj TGF- $\beta$  düzeyi kontrol grubunda  $3.9 \pm 2.1$  pg/mL, AR grubunda  $6.9 \pm 6.2$  pg/mL, astım grubunda  $7.4 \pm 4.6$  pg/mL saptandı. Astımla AR birlikteliği olan grupta ise TGF- $\beta$  düzeyi  $4.9 \pm 4.4$  pg/mL idi (Tablo 3) (Şekil 15).



Şekil 15. Çalışma gruplarında transforming growth faktör beta düzeyleri

### **Grupların Nazal Lavaj Sitokin Düzeylerinin Karşılaştırılması**

Gruplar arasında IL-1 düzeyleri anlamlı farklılık göstermedi ( $p=0.379$ ). Benzer şekilde IL-6, IL-10 ve IL-13 düzeyleri de gruplar arasında benzer bulundu (sırası ile  $p=0.748$ ,  $p=0.126$ ,  $p=0.249$ ). Ancak IL-25 düzeyi, gruplar arasında astım grubunda en düşükken kontrol grubunda en yüksek düzeylerde olduğu görüldü ( $p=0.028$ ). Bunun tersine IFN $\gamma$  düzeyleri astım grubunda  $27.8 \pm 16.4$  pg/mL en yüksek saptanırken, astımla AR birlikteliği olan grupta en düşük olduğu görüldü ( $p=0.009$ ). TGF $\beta$  düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık göstermese de kontrol grubunda  $3.9 \pm 2.1$  pg/mL ile en düşük, astım grubunda ise  $7.4 \pm 4.6$  pg/mL ile en yüksek düzeylerde olduğu gözlemlendi (Tablo 3).

## V. TARTIŞMA

Çocukluk çağının en sık görülen kronik hastalıklarından birini oluşturan astım sıklıkla AR ile birlikte görülür ve bu iki hastalığın klinik bulguları birbiri ile etkileşim gösterir (3). Bu durum astımlı çocuklarda, AR bulgularının klinikte ağırlaşmaya neden olması ile de kendini gösterir. Sadece klinik bulgular açısından değil patolojik bulgular açısından incelendiğinde de nazal ve bronşial yangının birbiri ile yakın ilişki gösterdiği saptanmıştır (43,44). İki hastalık arasındaki immunopatolojik özelliklerdeki benzerlik “birleşik hava yolu” kavramını oluşturmuştur (45). Bu birliktelikte birçok farklı mekanizma öne sürülmüştür ancak sistemik yangı hücrelerinin aktivasyonunun ve lokal üretilen mediatörlerin sistemik etkilerinin öncelikli krolü olduğu düşünülmektedir (45). AR ve astım eozinofillerin ve T lenfositlerin hakim olduğu benzer bir yangı paterni gösterir (46). Bu yolda ortak allerjik tetikleyiciler önemli rol oynar (47). Bu tetikleyiciler ile karşılaşma sonrasında doğal immün sistemin elemanları olan antijen sunucu hücrelerden TSLP-DH’ ler, T lenfosit yanıtını Th2 polarizasyonuna yönlendirir ve allerjik yangı ile epitel hücre aktivasyonu arasında ilişki kurar (47). DH’ ler ile epitel interaksiyonu sonucunda antijen sensitizasyonunu düzenlenir ve efektör hücreleri bölgeye çekecek sitokinler salgılanır (47). Bu yönleri ile epitel hücre ve DH, sadece doğumsal immün sistemin parçaları olarak görev yapmakla kalmayıp adaptif immüniteyi de düzenleyici rol üstlenmektedir (47).

Allerjik hastalıklar, yangının ortaya çıktığı dokularda Th2 lenfositler ve eozinofil birikimi ile ilişkilidir. Kronik astımda eozinofil fonksiyonları, lokal Th2 lenfositlerin aktivasyonu ve onlardan salınan IL-5 gibi sitokinler ile koreledir. Ancak, eozinofil ve Th2 hücre arasında karşılıklı bir etkileşim vardır ve eozinofillerin lokal yangı odağına toplanması da Th2 lenfosit aracılı allerjik yanıtı regüle eder. IL-17 ailesinden bir sitokin olan IL-25, Th2 lenfosit aracılı yangı yanıtını oluşturur (90,91). IL-25’in kaynağı olarak farklı hücreler gösterilmiş olmakla birlikte eozinofiller ve bazofillerin birincil IL-25 salgılayan hücreler arasında yer aldığı rapor edilmektedir (92). TSLP-DH ler Th2 lenfositlerin alerji yapıcı etkisini, bu hücrelerdeki IL-25’ in reseptörü olan IL-17RB

ekspresyonunu arttırarak indükler (92,90,91). IL-25, TSLP-DH'ler tarafından uyarılan Th2 bellek lenfosit ekspansiyonunu ve böylece de Th2 sitokin yanıtını arttırır (93). IL-25' in IL-4, IL-5 ve IL-13 gen ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (92). IL-25, Th2 bellek lenfositlerin proliferasyonunu uyarmak yanında, Th2 polarizasyonunu ve IL-5 başta olmak üzere sitokin yapımını, GATA-3, c-MAF ve junB gibi transkripsiyon faktörlerinin gen ekspresyonunu IL-4'ten bağımsız olarak düzenleyerek uyarır (94).

Çalışmamızın sonuçlarında IL25'in astımı olan hastaların nazal lavaj örneklerinde tüm gruplar içinde en düşük düzeylerde olduğu saptanmıştır. AR ve kontrol grubunda ise tüm gruplar içindeki en yüksek düzeyler olduğu gözlenmiştir. Th2 lenfosit yanıtını indükleyen bu sitokinin AR grubunda yüksek düzeylerdeyken sadece astımı olup alt solunum yolu yangısının belirgin olduğu hastalarda düşük olması solunum yolu tek mukoza ve tek organ sayılmasına karşın, alt solunum yolunda yangının daha yoğun olduğu durumda bu bölgede biriken eozinofil ve bazofillerin alt solunum yoluna lokalize IL-25 yanıtını daha baskın hale getireceğini düşündürebilir. Bu nedenle de AR olan hastalarda IL-25 düzeyleri, üst solunum yolunu daha yakından gösteren nazal lavaj örneklerinde yüksekken, sadece astımı olan çocuklarda böyle bir yükseklik görülmemiştir. Astımla AR birlikteliği olan çocuklarda bu iki grup arası değerler elde edilmiş olması da bu yorumu destekleyebilir.

Kontrol grubunda IL-25 yüksekliği bu yorumlar ile ters düşen bir sonuç olarak yorumlanabilir. Ancak bir olası açıklama nonatopik olan kontrol grubunda IL-4 düzeylerinin düşük olması negatif feedback eksikliği ve IL-25 yüksekliği ile sonuçlanabilir. Ancak bu hastalarda allerjik yatkınlık olmaması nedeni ile bu IL-25 yüksekliği IL-4 de artış ile sonuçlanamamaktadır. Sonuçta IL25'in Th2 uyarıcı etkisini gösterebilmesi için TSLP-DH'ler tarafından bu Th2 hücrelerde IL-25 reseptörünün artışı gereklidir (93). Bu nedenle de, kontrol grubunda IL-25 yüksekken IL-4 düzeylerinin düşük olması TSLP-DH'ler tarafından Th2 tipi yanıtı uyarım eksikliğine bağlı olduğu düşünülebilir. Bunun nedeni de IL-25 reseptör ekspresyonunun artışıdaki eksiklik olabilir.

Bu açıdan bakıldığında bir başka nokta daha dikkat çeker. Sadece astımı olan hastalar ve kontrol grubunda IL-4 düzeyleri birbirine yakınken, IL-25 düzeyleri kontrol grubunda çok daha yüksektir. Bu durum da, Th2 hücrelerin IL-25 yanıtındaki farklılığı ve bu farklılıktaki en önemli etken olan TSLP-DH'ler tarafından Th2 hücreler üzerindeki IL-25 reseptör uyarımındaki farklılığı düşündürebilir. Bu yorumun kesinleştirilebilmesi için

daha ileri çalışmalarda aynı hasta gruplarında TSLP-DH sayımı ve Th2 hücreler üzerindeki IL-25 reseptör kantifikasyonu yol gösterici olacaktır.

Çalışmamızda düzeyleri ölçülmüş olan diğer sitokinler arasında yer alan IL-13 gruplar arasında farklılık göstermemiştir. Bu beklenen bir sonuç değildir. Çünkü IL-13 Th2 tipi yanıtın göstergesi bir sitokindir (95). Ayrıca, Th2 hücrelerden IL-13 sekresyonu IL-25 tarafından indüklenir (93). IL-13, IL-5 ile birlikte, IL-25 tarafından ortaya çıkarılan eozinofili için gerekli bir mediatördür (92). Yinelene nazal alerjen uyarımı sonrasında bazofillerden IL-13 salınımında artış ortaya çıktığı da gösterilmiştir ve IL-13 ile hava yolunda mukus artışı, bronşial hiperreaktivite arasında ilişki vardır (95).

Daha önceki yayınların bu verileri göz önüne alındığında, AR ve astım ya da her iki hastalığın birlikteliği olan gruplar arasında benzerlik olması beklenen bir bulgu iken kontrol grubunda daha düşük olması beklenirdi. Bu sonucun iki farklı açıklaması olabilir. İlki nazal lavajdaki IL-13 düzeylerinin tüm gruplarda düşük olması ve ölçüm için kullanılan kitlerin deteksiyon limitlerinin altında seyretmesi olabilir. Ancak bir diğer açıklama da IL-25'in aktive olmayan Th2 hücrelerini etkilememesinden kaynaklanması olabilir (93). Bunun sonucunda da IL-25 düzeyleri kontrol grubunda yüksek, astım grubunda düşük olmasına karşın IL-13 yanıtları benzer olmuştur. Bu açıklama IL-4 düzeylerinde astım ve kontrol grubundaki benzerliğe benzer bir açıklamadır.

Ayrıca, her ne kadar yinelene nazal alerjen yükleme ile IL-13 teki artış gösterilmiş olsa da segmental alerjen yükleme sonrasında alt hava yollarına tek bir kez yapılan alerjen uyarımlarında bazofillerden IL-13 salınımında erken dönemde artış saptanmamış ancak IL-3 altında inkübasyon sonrasında artış ortaya çıkabilmiştir (96). Bu gecikmiş yanıt da sonuçlarımızı açıklayabilir. Bu çalışmadaki hastaların çalışmaya alınması sırasında polen mevsimi gözletilmemiş hatta akut alerjen uyarı yanıtlarından daha çok DH'ye yönelik yanıtların çalışılması istendiğinden hastaların çalışmaya alınması sonbahar ve kış mevsiminde daha yoğun olmuştur. Bu nedenle de, IL-13 te alerjen uyarım ile olması beklenen artış gözlenmemiş olabilir.

Interlökin-10 varlığında DH, Treg diferansiyasyonunu indükleyerek Th2 hücre alerjen toleransını sağlar (97). Treg hava yolu hiperreaktivitesi, eozinofili, ve Th2 sitokin yapımını IL-10 aracılığı ile engeller (98). Ancak Treg bu supresif etkileri kendi IL-10 salınımlarından bağımsız olup CD4+ T hücrelerden IL-10 salınımını indüklemeleri ile ilişkilidir (98). Bu nedenle çalışmamızın sonuçlarında IL-10 düzeylerinde gruplar arasında farklılık beklenirdi. Ancak beklendiği üzere kontrol grubunun nazal lavaj IL-10 düzeyleri

astım ve AR grubundan yüksek olma eğiliminde olmasına karşın gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Bunun nedenlerinden biri, IL-10 düzeylerindeki varyansın ve standart deviasyonun yüksek olması olabilir. Bu istatistiksel gücü düşürmüş olabilir.

Astımla birlikte AR olan grupta da IL-10 düzeylerini yüksek saptanmış olması ise bu sonuçlarla ters düşen bir bulgudur. Ancak bu bulgu, IL-4 ve IL-13 ün bu grupta diğer iki gruptaki kadar yüksek olmaması ile uyumludur. Bu duruma bir potansiyel açıklama yineleyen alerjen maruziyeti ile hava yolu hiperreaktivitesi ve allerjik yangıda myeloid DH sayısındaki düşmeye bağlı azalma olabilir (99). Ancak bu açıklama kontrol grubu bu grup arasında IL-10 düzeyleri arasında fark olmamasını açıklayabilecekken, tek astım ya da AR grubundaki çocuklara göre yüksek olan değerleri açıklamaya yeterli olmaz. Bir başka potansiyel açıklama, IL-10 düzeyleri üzerine etkili olan alerji dışında birçok faktör olmasına bağlanabilir. Bunların bir örneği, hava yolu epitel hücreleri ile interaksiyon varlığında lipopolisakkaritler ile karşılaşan DH'lerin IL-10 düzeylerinde ve IL-12p düzeylerinde artış ile ilişkilidir (100). Bu açıdan bakıldığında, her ne kadar çalışmaya akut enfeksiyon bulguları olan çocuklar alınmamış olsa da yakın dönemde geçirilmiş bir enfeksiyon böyle bir bulgu ile sonuçlanmış olabilir. Ancak bu açıklama da Th1 göstergesi olan IFN $\gamma$  düzeylerinde yükseklik eşlik etmediği için çok kabul edilebilir değildir.

Timik stromal Dendritik hücreler Th2 tipi yanıtı ve IL-25'e T hücre yanıtını indükler ancak diğer DH uyarıcılarından farklı olarak myeloid DH'lerin IL-1, IL-6 ya da tip1 IFN'lar gibi Th1 tipi immün yanıt ile ilişkili sitokinlerin salınımını arttırmaz (91). Üzerinde B7 moleküllerinin bağlanması için bir reseptör olan B7-DH molekülünü taşıyan DH'ler, büyük olasılıkla Th1 hücrelerden IFN $\gamma$  yapımını arttırılır (101). Çalışmamızda Th1 hücre yanıtının bir göstergesi olan IFN $\gamma$  düzeyleri gruplar arasında anlamlı farklı saptanmıştır. IFN $\gamma$ , eozinofili, IL-5 ve IL-13 gibi Th2 belirteci olan sitokinlerde azalmaya neden olur (102). Bu etkinin splenik DH'lerin antijen sunum kapasitesi ve sitokin yapımını azaltarak ortaya çıktığı gösterilmiştir (102). Çalışmamızın sonuçlarında, astımla AR birlikteliği olan grupta IFN $\gamma$  düzeyleri diğer gruplara göre belirgin düşüktür. Bu durum astım ve AR birlikteliği olan hastalarda Th1 yanıtın düşüklüğünü işaret etmektedir.

Transforming growth faktör- $\beta$ , Treg fox-p3 transkripsiyon faktörünün etkisi altında salgılanır ve antiinflamatuvar özellikleri vardır (103). TGF- $\beta$ , DH engellediği ve bu inkomplet sinyal gönderen DH'lerin T hücrelerde enerji yaratabildiği öne sürülmektedir (104). Ayrıca TGF- $\beta$ , periferik regülatuar T hücre gelişiminde de rol oynamaktadır (105).



Çalışmamızda gruplar arasında TGF- $\beta$ , düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunmamıştır ancak kontrol grubundaki düzeyler diğerlerine göre daha düşük olma eğilimindedir. Bu, atopisi olmayan kontrol grubunda anti-inflamatuar fonksiyon göstermesine gerek olmamasından kaynaklanabilir. Diğer atopik çocuklarda ise alerjik yanıt yüksek olduğundan ve yangısal düreç mevcut olduğundan bunları baskılamak amacı ile TGF- $\beta$  düzeylerinin daha yüksek olma eğiliminde olduğu düşünülebilir. Bu yükseklik IL-10 düzeylerinin de istatistiksel olarak anlamlı olmasa da kontrol grubunda daha yüksek olması ile uyumludur.

## VI. SONUÇ

Allerjik rinit ve astım birlikteliğinde her iki hastalığa ait immünopatolojik özellikler rol oynar ve bu süreçte sistemik yangı hücrelerinin aktivasyonu ve lokal üretilen mediatörlerin sistemik etkilerinin rolü önem taşır. Çalışmamızda saptanmış olan IL-25 sonuçları, TSLP-DH'lerin bu sitokin reseptörlerini arttırmak aracılığı ile Th2 yanıtını uyarmalarının kliniği önemli ölçüde etkilediğini düşündürmektedir. IL-25'e verilen yanıt allerjik yangının ortaya çıkıp çıkmayacağını belirteci olabileceğini düşündürmektedir. Bu yanıtızsızlık, allerjik yanıtı olmayan çocuklarda IL-25 düzeylerindeki yüksekliğe karşın bu sitokine normalde beklenen yanıt olan IL-4 ve IL-13 artışının olmayışını açıklayabilir. Bununla birlikte Th1 tipi yanıtın göstergesi olan IFN $\gamma$ 'nın astımla ARK birlikteliği olan çocuklarda yüksek düzeylerde saptanması her iki hastalığın tek başına olduğu duruma göre birliktelikte Th1 yanıtın daha da baskılanmış olduğu düşüncesini uyarmaktadır.

## ÖZET

“Birleşik hava yolu” kavramının ortaya çıkışında lokal ve sistemik bir çok farklı mekanizma öne sürülmüştür. Hem astım hem de alerjik rinitin (AR) ortaya çıkışında ortak allerjik tetikleyiciler rol oynar. Bu antijenleri sunmakla görevli olan dendritik hücreler (DH) Th2 polarizasyonunu tetikler. Doğal immün sistemdeki antijen sunma etkileri yanında DH’ler salgıladıkları sitokinler aracılığı ile yangının ortaya çıktığı bölgeye göç eden efektör hücreleri etkileyerek yangının tipinin belirlenmesinde rol oynarlar.

Bu çalışmanın amacı, sadece astımı, sadece AR’i ve astımla birlikte AR’i olan çocuklarda nazal lavaj sıvısında interlökin (IL)-1, IL-4, IL-6, IL-10, IL-13, IL25, İnterferon  $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) ve transforming growth faktör- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) düzeylerinin ölçülmesi ve alerjisi olmayan çocuklarla karşılaştırılması yolu ile “birleşik hava yolu” kavramı immünpatogenezinde DH fonksiyonlarının belirlenmesidir.

Çalışmaya 5-17 yaşları arasında olan 80 çocuk alındı ve nonatopik kontrol, atopik astım, AR ve astımla AR birlikteliği olan grup olmak üzere dört grupta incelendi. Çalışmaya alınan tüm hastaların yaş ve cinsiyetleri klinik bulgularının ağırlığı ve bu belirtilerin başlangıç yaşı kaydedildi. Tüm çocuklara nazal lavaj uygulandı ve nazal lavaj örneklerinde IL-1, IL-4, IL-6, IL-10, IL-13, IL-25, IFN $\gamma$ , ve TGF- $\beta$  düzeyleri ölçüldü.

Çalışmaya alınan çocukların (39 erkek, 41 kız) yaş ortalaması  $10.0 \pm 2.9$  yılıdır. Gruplar arasında IL-1 düzeyleri anlamlı farklılık göstermedi ( $p=0.379$ ). Benzer şekilde IL-6, IL-10 ve IL-13 düzeyleri de gruplar arasında benzer bulundu (sırası ile  $p=0.748$ ,  $p=0.126$ ,  $p=0.249$ ). Ancak IL-25 düzeyi, astım grubunda en düşükken kontrol grubunda en yüksek düzeylerde olduğu görüldü ( $p=0.028$ ). Bunun tersine IFN $\gamma$  düzeyleri astım grubunda  $27.8 \pm 16.4$  pg/mL en yüksek saptanırken, astımla AR birlikteliği olan grupta en düşük olduğu görüldü ( $p=0.009$ ). TGF $\beta$  düzeyleri gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık göstermedi.

Çalışmamızda saptanmış olan IL-25 sonuçları, DH’lerin bu sitokin reseptörlerini arttırmak aracılığı ile Th2 yanıtını uyarmalarının kliniği önemli ölçüde etkilediğini düşündürmektedir. IL-25’e verilen yanıt allerjik yangının belirleyicisi olabilir ve allerjik olmayan çocuklarda IL-25 düzeylerindeki yüksekliğe karşın IL-4 ve IL-13 artışının olmayışı IL-25’e yanıtızsızlığa bağlanabilir. Bununla birlikte Th1 tipi yanıtın göstergesi olan IFN $\gamma$ ’nın astımla AR birlikteliği olan çocuklarda yüksek düzeylerde saptanması her iki hastalığın tek başına olduğu duruma göre Th1 yanıtın daha da baskılanmış olduğunu düşündürmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Birleşik hava yolu, Dendritik hücre, Nazal lavaj, Çocuk

## SUMMARY

Many different local and systemic mechanisms have been blamed in the pathogenesis of “united airways” concept. Common allergic triggers play role in development of both asthma and allergic rhinitis (AR) Dendritic cells (DC) that present these antigens trigger Th2 polarization. Besides their role in antigen presentation in innate immune system, DCs also influence the effector cells that migrate to the area of inflammation via the cytokines they secrete therefore determine the type of inflammation.

The aim of this study was to determine the function of DCs in the immunopathogenesis of the “united airways” concept via measuring levels of interleukin (IL)-1, IL-4, IL-6, IL-10, IL-13, IL-25, interferon $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) and transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) in nasal lavage fluid of children with only asthma, only AR and both asthma and AR and comparing these with the ones in nonallergic children.

Eighty children aged between 5-17 years were enrolled in the study and evaluated in four groups as nonatopic control, atopic asthma, AR and asthma with AR. Age, gender, clinical severity and the age at initiation of these findings were recorded. Nasal lavage was performed in all children and levels of IL-1, IL-4, IL-6, IL-10, IL-13, IL-25, IFN $\gamma$  and TGF- $\beta$  were measured in nasal lavage fluids.

Mean age of the children (39 male, 41 female) enrolled in the study was  $10.0 \pm 2.9$  years. Levels of IL-1 were not different between the groups ( $p=0.379$ ). Likewise, levels of IL-6, IL-10 ve IL-13 were similar between the groups ( $p=0.748$ ,  $p=0.126$ ,  $p=0.249$  respectively). However, it was detected that levels of IL-25 were lowest in the asthma group but highest in the control group ( $p=0.028$ ). On the contrary, IFN $\gamma$  levels were highest in the asthma group with  $27.8 \pm 16.4$  pg/mL while lowest in the asthma with AR group ( $p=0.009$ ). TGF $\beta$  levels did not demonstrate a statistically significant difference between the groups.

Levels of IL-25 detected in our study might indicate that stimulation of Th2 response via upregulation of this cytokines' receptors by the DCs influence clinical outcome. Response to IL-25 might be the determinant of allergic inflammation and absence of an increase in IL-4 or IL-13 levels despite high IL-25 levels might be attributed to lack of response to IL-25. Moreover, high levels of IFN $\gamma$  in children with coexistent asthma and AR might be due to a more depressed Th1 response compared to the cases with either disease alone.

**Key Words:** United airways, Dendritic cell, Nasal lavage, Child

## KAYNAKLAR

1. Jeffery PK, Haahtela T. Allergic rhinitis and asthma: inflammation in a one-airway condition. *BMC Pulm Med* 2006;6:S5.
2. Bousquet J, Khaltaev N, Cruz AA, Denburg J, Fokkens WJ, Togias A, Zuberbier T, Baena-Cagnani CE, Canonica GW, van Weel C, Agache I, Ait-Khaled N, Bachert C, Blaiss MS, Bonini S, Boulet LP, Bousquet PJ, Camargos P, Carlsen KH, Chen Y, Custovic A, Dahl R, Demoly P, Douagui H, Durham SR, van Wijk RG, Kalayci O, Kaliner MA, Kim YY, Kowalski ML, Kuna P, Le LT, Lemiere C, Li J, Lockey RF, Mavale-Manuel S, Meltzer EO, Mohammad Y, Mullol J, Naclerio R, O'Hehir RE, Ohta K, Ouedraogo S, Palkonen S, Papadopoulos N, Passalacqua G, Pawankar R, Popov TA, Rabe KF, Rosado-Pinto J, Scadding GK, Simons FE, Toskala E, Valovirta E, van Cauwenberge P, Wang DY, Wickman M, Yawn BP, Yorgancioglu A, Yusuf OM, Zar H, Annesi-Maesano I, Bateman ED, Ben Kheder A, Boakye DA, Bouchard J, Burney P, Busse WW, Chan-Yeung M, Chavannes NH, Chuchalin A, Dolen WK, Emuzyte R, Grouse L, Humbert M, Jackson C, Johnston SL, Keith PK, Kemp JP, Klossek JM, Larenas-Linnemann D, Lipworth B, Malo JL, Marshall GD, Naspitz C, Nekam K, Niggemann B, Nizankowska-Mogilnicka E, Okamoto Y, Orru MP, Potter P, Price D, Stoloff SW, Vandenplas O, Viegi G, Williams D; World Health Organization; GA(2)LEN; AllerGen. Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma (ARIA) 2008 update (in collaboration with the World Health Organization, GA(2)LEN and AllerGen). *Allergy*. 2008; 63: 8-160.
3. Ciprandi G, Passalacqua G. Allergy and the nose. *Clin Exp Immunol*. 2008; 153: 22-6.
4. 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: 31-5.

5. Yan DC, Ou LS, Tsai TL, Wu WF, Huang JL. Prevalence and severity of symptoms of asthma, rhinitis, and AE in 13- to 14-year-old children in Taipei, Taiwan.  
Ann Allergy Asthma Immunol 2005; 95: 579-85.
6. Lee SL, Wong W, Lau YL. Increasing prevalence of allergic rhinitis but not asthma among children in Hong Kong from 1995 to 2001 (Phase 3 International Study of Asthma and Allergies in Childhood). Pediatr Allergy Immunol 2004; 15: 72-8.
7. Kuyucu S, Saraclar Y, Tuncer A, Geyik PO, Adalioglu G, Akpinarli A, Sekerel BE, Sumbuloglu V. Epidemiologic characteristics of rhinitis in Turkish children: the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) phase 2. Pediatr Allergy Immunol 2006; 17: 269-77.
8. Sultész M, Katona G, Hirschberg A, Gálffy G. Prevalence and risk factors for allergic rhinitis in primary schoolchildren in Budapest. Int J Pediatr Otorhinolaryngol. 2010; 74: 503-9.
9. Bunnag C, Jareoncharsri P, Tantilipikorn P, Vichyanond P, Pawankar R. Epidemiology and current status of allergic rhinitis and asthma in Thailand -- ARIA Asia-Pacific Workshop report. Asian Pac J Allergy Immunol. 2009; 27: 79-86.
10. Bauchau V, Durham SR. Prevalence and rate of diagnosis of allergic rhinitis in Europe. Eur Respir J. 2004; 24: 758-64.
11. Broide DH. Molecular and cellular mechanisms of allergic disease. J Allergy Clin Immunol. 2001 ;108:S65-S71.
12. Bochner BS, Schleimer RP. Mast cells, basophils, and eosinophils: Distinct but overlapping pathways for recruitment. Immunol Rev. 2001 ;179:5-15.
13. Nathan RA. The pathophysiology, clinical impact, and management of nasal congestion in allergic rhinitis. Clin Ther. 2008; 30: 573-86.
14. Yuksel H, Sogut A, Yilmaz H, Yilmaz O, Dinc G. Sleep actigraphy evidence of improved sleep after treatment of allergic rhinitis. Ann Allergy Asthma Immunol. 2009; 103: 290-4.
15. Santos CB, Pratt EL, Hanks C, McCann J, Craig TJ. Allergic rhinitis and its effect on sleep, fatigue, and daytime somnolence. Ann Allergy Asthma Immunol. 2006; 97: 579-86

16. Sundberg R, Torén K, Höglund D, Aberg N, Brisman J. Nasal symptoms are associated with school performance in adolescents. *J Adolesc Health*. 2007 ; 40: 581-3.
17. Borres MP. Allergic rhinitis: more than just a stuffy nose. *Acta Paediatr*. 2009; 98: 1088-92.
18. Blaiss MS. Pediatric allergic rhinitis: physical and mental complications. *Allergy Asthma Proc*. 2008; 29: 1-6.
19. Dykewicz MS, Fineman S. Executive summary of Joint Task Force Practice Parameters on Diagnosis and Management of Rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 1998;81:463–468.
20. Pastorello EA, Incorvaia C, Pravettoni V, Marelli A, Farioli L, Ghezzi M. Clinical evaluation of CAP System and RAST in the measurement of specific IgE. *Allergy* 1992;47:463–466.
21. Malm L, Gerth van Wijk R, Bachert C. Guidelines for nasal provocations with aspects on nasal patency, airflow, and airflow resistance. International Committee on Objective Assessment of the Nasal Airways, International Rhinologic Society. *Rhinology* 2000;38:1–6.
22. Baiardini I, Braido F, Tarantini F, Porcu A, Bonini S, Bousquet PJ, Zuberbier T, Demoly P, Canonica GW; GA2LEN. ARIA-suggested drugs for allergic rhinitis: what impact on quality of life? A GA2LEN review. *Allergy*. 2008; 63: 660-9.
23. Okano M. Mechanisms and clinical implications of glucocorticosteroids in the treatment of allergic rhinitis. *Clin Exp Immunol*. 2009; 158: 164-73.
24. Pipet A, Botturi K, Pinot D, Vervloet D, Magnan A. Allergen-specific immunotherapy in allergic rhinitis and asthma. Mechanisms and proof of efficacy. *Respir Med*. 2009; 103: 800-12.
25. Eng PA, Borer-Reinhold M, Heijnen IA, Gnehm HP. Twelve-year follow-up after discontinuation of preseasonal grass pollen immunotherapy in childhood. *Allergy* 2006; 61: 198-201.
26. Durham SR, Walker SM, Varga EM, Jacobson MR, O'Brien F, Noble W, Till SJ, Hamid QA, Nouri-Aria KT. Long-term clinical efficacy of grass-pollen immunotherapy. *N Engl J Med* 1999; 341: 468-75.
27. Möller C, Dreborg S, Ferdousi HA, Halken S, Høst A, Jacobsen L, Koivikko A, Koller DY, Niggemann B, Norberg LA, Urbanek R, Valovirta E, Wahn U. Pollen

- immunotherapy reduces the development of asthma in children with seasonal rhinoconjunctivitis (the PAT-study). *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: 251-6.
28. Jacobsen L, Niggemann B, Dreborg S, Ferdousi HA, Halken S, Høst A, Koivikko A, Norberg LA, Valovirta E, Wahn U, Möller C; (The PAT investigator group). Specific immunotherapy has long-term preventive effect of seasonal and perennial asthma: 10-year followup on the PAT study. *Allergy* 2007; 62: 943-8.
  29. Niggemann B, Jacobsen L, Dreborg S, Ferdousi HA, Halken S, Høst A, Koivikko A, Koller D, Norberg LA, Urbanek R, Valovirta E, Wahn U, Möller C; PAT Investigator Group. Five-year follow-up on the PAT study: specific immunotherapy and long-term prevention of asthma in children. *Allergy*. 2006; 61: 855-9.
  30. Lemanske RF Jr, Busse WW. Asthma: clinical expression and molecular mechanisms. *J Allergy Clin Immunol*. 2010; 125: S95-102.
  31. Expert panel report3: guidelines for the diagnosis and management of asthma. Full Report 2007 NIH Publication: U.S. Department of Health and Human Services; National Institutes of Health; National Heart, Lung, and Blood Institute; National Asthma Education and Prevention Program, August 2007.
  32. Strachan DP, Cook DG. Health effects of passive smoking. 6. Parental smoking and childhood asthma: longitudinal and case-control studies. *Thorax* 1998; 53: 204-12.
  33. <http://www.ginasthma.com>. Global Strategy for the Diagnosis and Management of Asthma in Children 5 Years and Younger
  34. Holgate ST. Has the time come to rethink the pathogenesis of asthma? *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2010; 10: 48-53.
  35. Corradi M, Folesani G, Andreoli R, Manini P, Bordini A, Piacentini G, Carraro S, Zanconato S, Baraldi E. Aldehydes and glutathione in exhaled breath condensate of children with asthma exacerbation. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 395-9.
  36. Zanconato S, Carraro S, Corradi M, Alinovi R, Pasquale MF, Piacentini G, Zacchello F, Baraldi E. Leukotrienes and 8-isoprostane in exhaled breath condensate of children with stable and unstable asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 257-63.
  37. Holgate ST. Pathogenesis of asthma. *Clin Exp Allergy*. 2008; 38: 872-97.



38. Bousquet J, Jeffery PK, Busse WW, Johnson M, Vignola AM. Asthma. From bronchoconstriction to airways inflammation and remodeling. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1720-45.
39. Barnes PJ. Immunology of asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *Nat Rev Immunol* 2008;8:183-92.
40. Bradding P, Walls AF, Holgate ST. The role of the mast cell in the pathophysiology of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:1277-84.
41. Holgate ST, Davies DE, Lackie PM, Wilson SJ, Puddicombe SM, Lordan JL. Epithelial-mesenchymal interactions in the pathogenesis of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:193-204.
42. Tsai TC, Lu JH, Chen SJ, Tang RB. Clinical efficacy of house dust mite-specific immunotherapy in asthmatic children. *Pediatr Neonatol.* 2010; 51: 14-8.
43. Ciprandi G, Cirillo I, Vizzaccaro A, Milanese M, Tosca MA. Nasal inflammation and nasal airflow correlate with FEV1 in patients with perennial allergic rhinitis and asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2004; 93: 975–80.
44. Ciprandi G, Vizzaccaro A, Cirillo I, Tosca MA, Massolo A, Passalacqua G. Nasal eosinophils display the best correlation with symptoms, pulmonary function and inflammation in allergic rhinitis. *Int Arch Allergy Immunol* 2005; 136: 266–72.
45. Fasano MB. Combined airways: impact of upper airway on lower airway. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 2010; 18:15–20
46. Braunstahl GJ. United airways concept: what does it teach us about systemic inflammation in airways disease? *Proc Am Thorac Soc.* 2009; 6: 652-4.
47. Wang Y, Bai C, Li K, Adler KB, Wang X. Role of airway epithelial cells in development of asthma and allergic rhinitis. *Respir Med.* 2008; 102: 949-55.
48. Sabatté J, Maggini J, Nahmod K, Amaral MM, Martínez D, Salamone G, Ceballos A, Giordano M, Vermeulen M, Geffner J. Interplay of pathogens, cytokines and other stress signals in the regulation of dendritic cell function. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2007; 18: 5-17.
49. Sato K, Fujita S. Dendritic cells: nature and classification. *Allergol Int.* 2007; 56: 183-91.
50. Ueno H, Klechevsky E, Morita R, Asford C, Cao T, Matsui T, Di Pucchio T, Connolly J, Fay JW, Pascual V, Palucka AK, Banchereau J. Dendritic cell subsets in health and disease. *Immunol Rev.* 2007; 219: 118-42.

51. Villadangos JA, Schnorrer P. Intrinsic and cooperative antigen-presenting functions of dendritic-cell subsets in vivo. *Nat Rev Immunol.* 2007; 7: 543-55.
52. Lambrecht BN, Hammad H. Lung dendritic cells: targets for therapy in allergic disease. *Chem Immunol Allergy.* 2008; 94: 189-200.
53. Segura E, Villadangos JA. Antigen presentation by dendritic cells in vivo. *Curr Opin Immunol.* 2009; 21: 105-10.
54. Gallegos AM, Bevan MJ. Central tolerance: good but imperfect. *Immunol Rev.* 2006; 209: 290–296.
55. Gallegos AM, Bevan MJ. Central tolerance to tissue-specific antigens mediated by direct and indirect antigen presentation. *J Exp Med* 2004; 200: 1039–1049.
56. Steinman RM, Hawiger D, Nussenzweig MC. Tolerogenic dendritic cells. *Annu Rev Immunol.* 2003; 21: 685–711.
57. Bharadwaj AS, Bewtra AK, Agrawal DK. Dendritic cells in allergic airway inflammation. *Can J Physiol Pharmacol.* 2007; 85: 686-99.
58. Hammad H, Lambrecht BN. Dendritic cells and epithelial cells: linking innate and adaptive immunity in asthma. *Nat Rev Immunol.* 2008; 8: 193-204.
59. Sung SS, Fu SM, Rose CE Jr, Gaskin F, Ju ST, Beaty SR. A major lung CD103 ( $\alpha$ E)  $\beta$ 7 integrin-positive epithelial dendritic cell population expressing Langerin and tight junction proteins. *J Immunol.* 2006; 176: 2161–2172.
60. Vermaelen KY, Carro-Muino I, Lambrecht BN, Pauwels RA. Specific migratory dendritic cells rapidly transport antigen from the airways to the thoracic lymph nodes. *J Exp Med* 2001; 193: 51–60.
61. Hintzen G, Ohl L, del Rio ML, Rodriguez-Barbosa JI, Pabst O, Kocks JR, Krege J, Hardtke S, Förster R. Induction of tolerance to innocuous inhaled antigen relies on a CCR7-dependent dendritic cell-mediated antigen transport to the bronchial lymph node. *J Immunol.* 2006; 177: 7346–7354.
62. Colonna, M., Trinchieri, G. & Liu, Y. J. Plasmacytoid dendritic cells in immunity. *Nature Immunol.* 2004; 5: 1219–1226.
63. Heath W R, Belz GT, Behrens GM, Smith CM, Forehan SP, Parish IA, Davey GM, Wilson NS, Carbone FR, Villadangos JA. Cross-presentation, dendritic cell subsets, and the generation of immunity to cellular antigens. *Immunol. Rev.* 2004; 199, 9–26.

64. den Haan JM, Lehar SM, Bevan MJ. CD8(+) but not CD8(-) dendritic cells cross-prime cytotoxic T cells in vivo. *J Exp Med.* 2000; 192: 1685-96.
65. Schnorrer P, Behrens GM, Wilson NS, Pooley JL, Smith CM, El-Sukkari D, Davey G, Kupresanin F, Li M, Maraskovsky E, Belz GT, Carbone FR, Shortman K, Heath WR, Villadangos JA. The dominant role of CD8+ dendritic cells in cross-presentation is not dictated by antigen capture. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006; 103: 10729-34.
66. Belz GT, Shortman K, Bevan MJ, Heath WR. CD8alpha+ dendritic cells selectively present MHC class I-restricted noncytolytic viral and intracellular bacterial antigens in vivo. *J Immunol* 2005; 175:196-200.
67. Corbett AJ, Caminschi I, McKenzie BS, Brady JL, Wright MD, Mottram PL, Hogarth PM, Hodder AN, Zhan Y, Tarlinton DM, Shortman K, Lew AM. Antigen delivery via two molecules on the CD8- dendritic cell subset induces humoral immunity in the absence of conventional "danger". *Eur J Immunol.* 2005; 35: 2815-25.
68. Dodge IL, Carr MW, Cernadas M, Brenner MB. IL-6 production by pulmonary dendritic cells impedes Th1 immune responses. *J Immunol.* 2003; 170: 4457-64.
69. Liu YJ. Thymic stromal lymphopoietin and OX40 ligand pathway in the initiation of dendritic cell-mediated allergic inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2007; 120: 238-44
70. de Heer HJ, Hammad H, Soullié T, Hijdra D, Vos N, Willart MA, Hoogsteden HC, Lambrecht BN. Essential role of lung plasmacytoid dendritic cells in preventing asthmatic reactions to harmless inhaled antigen. *J Exp Med* 2004; 200: 89–98.
71. KleinJan A, Willart M, van Rijt LS, Braunstahl GJ, Leman K, Jung S, Hoogsteden HC, Lambrecht BN. An essential role for dendritic cells in human and experimental allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2006; 118: 1117-25.
72. van Rijt LS, Prins JB, Leenen PJ, Thielemans K, de Vries VC, Hoogsteden HC, Lambrecht BN. Allergen-induced accumulation of airway dendritic cells is supported by an increase in CD31(hi)Ly-6C(neg) bone marrow precursors in a mouse model of asthma. *Blood.* 2002; 100: 3663-71.
73. van Rijt LS, Jung S, Kleinjan A, Vos N, Willart M, Duez C, Hoogsteden HC, Lambrecht BN. In vivo depletion of lung CD11c+ dendritic cells during allergen

- challenge abrogates the characteristic features of asthma. *J Exp Med.* 2005; 201: 981-91.
74. 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: 528-33.
  75. Stumbles PA, Strickland DH, Pimm CL, Proksch SF, Marsh AM, McWilliam AS, Bosco A, Tobagus I, Thomas JA, Napoli S, Proudfoot AE, Wells TN, Holt PG. Regulation of dendritic cell recruitment into resting and inflamed airway epithelium: use of alternative chemokine receptors as a function of inducing stimulus. *J Immunol* 2001; 167: 228–234.
  76. Huh JC, Strickland DH, Jahnsen FL, Turner DJ, Thomas JA, Napoli S, Tobagus I, Stumbles PA, Sly PD, Holt PG. Bidirectional interactions between antigen-bearing respiratory tract dendritic cells (DCs) and T cells precede the late phase reaction in experimental asthma: DC activation occurs in the airway mucosa but not in the lung parenchyma. *J Exp Med.* 2003; 198: 19-30.
  77. Wang YH, Liu YJ. Thymic stromal lymphopoietin, OX40-ligand, and interleukin-25 in allergic responses. *Clin Exp Allergy.* 2009; 39: 798-806.
  78. Liu YJ. TSLP in epithelial cell and dendritic cell cross talk. *Adv Immunol.* 2009;101:1-25.
  79. Liu YJ, Soumelis V, Watanabe N, Ito T, Wang YH, Malefyt Rde W, Omori M, Zhou B, Ziegler SF. TSLP: an epithelial cell cytokine that regulates T cell differentiation by conditioning dendritic cell maturation. *Annu Rev Immunol.* 2007; 25: 193-219.
  80. Wang YH, et al. Maintenance and polarization of human TH2 central memory T cells by thymic stromal lymphopoietin-activated dendritic cells. *Immunity* 2006; 24: 827–838.
  81. Besin G, Gaudreau S, Ménard M, Guindi C, Dupuis G, Amrani A. Thymic stromal lymphopoietin and thymic stromal lymphopoietin-conditioned dendritic cells induce regulatory T-cell differentiation and protection of NOD mice against diabetes. *Diabetes.* 2008; 57: 2107-17.
  82. Yamazaki S, Steinman RM. Dendritic cells as controllers of antigen-specific Foxp3+ regulatory T cells. *J Dermatol Sci.* 2009; 54: 69-75.

83. Lambrecht BN, De Veerman M, Coyle AJ, Gutierrez-Ramos JC, Thielemans K, Pauwels RA. Myeloid dendritic cells induce Th2 responses to inhaled antigen, leading to eosinophilic airway inflammation. *J Clin Invest.* 2000; 106: 551-9.
84. Caron G, Delneste Y, Roelandts E, Duez C, Bonnefoy JY, Pestel J, Jeannin P. Histamine polarizes human dendritic cells into Th2 cell-promoting effector dendritic cells. *J Immunol.* 2001; 167: 3682-6.
85. Kitawaki T, Kadowaki N, Sugimoto N, Kambe N, Hori T, Miyachi Y, Nakahata T, Uchiyama T. IgE-activated mast cells in combination with pro-inflammatory factors induce Th2-promoting dendritic cells. *Int Immunol.* 2006; 18: 1789-99.
86. Størdal K, Johannesdottir GB, Bentsen BS, Knudsen PK, et al. Acid suppression does not change respiratory symptoms in children with asthma and gastro-oesophageal reflux disease. *Arch Dis Child.* 2005; 90: 956-60.
87. Clark J, Schall R. Assessment of combined symptom and medication scores for rhinoconjunctivitis immunotherapy clinical trials. *Allergy.* 2007; 62:1023-8
88. Naclerio RM, Meier HL, Kagey-Sobotka A, Adkinson NF, Meyers DA, Norman PS, Lichtenstein LM. Mediator release after nasal airway challenge with allergen. *Am Rev Respir Dis.* 1983; 128: 597.
89. Lü FX, Esch RE. Novel nasal secretion collection method for the analysis of allergen specific antibodies and inflammatory biomarkers. *J Immunol Methods.* 2010;356: 6-17.
90. Fort MM, Cheung J, Yen D, Li J, Zurawski SM, Lo S, Menon S, Clifford T, Hunte B, Lesley R, Muchamuel T, Hurst SD, Zurawski G, Leach MW, Gorman DM, Rennick DM. IL-25 induces IL-4, IL-5, and IL-13 and Th2-associated pathologies in vivo. *Immunity.* 2001; 15: 985-95.
91. Wang YH, Liu YJ. Thymic stromal lymphopoietin, OX40-ligand, and interleukin-25 in allergic responses. *Clin Exp Allergy.* 2009; 39: 798-806.
92. Hurst SD, Muchamuel T, Gorman DM, Gilbert JM, Clifford T, Kwan S, Menon S, Seymour B, Jackson C, Kung TT, Brieland JK, Zurawski SM, Chapman RW, Zurawski G, Coffman RL. New IL-17 family members promote Th1 or Th2 responses in the lung: in vivo function of the novel cytokine IL-25. *J Immunol.* 2002; 169: 443-53
93. Wang YH, Angkasekwinai P, Lu N, Voo KS, Arima K, Hanabuchi S, Hippe A, Corrigan CJ, Dong C, Homey B, Yao Z, Ying S, Huston DP, Liu YJ. IL-25

- augments type 2 immune responses by enhancing the expansion and functions of TSLP-DC-activated Th2 memory cells. *J Exp Med.* 2007; 204: 1837-47.
94. Wang YH, Liu YJ. OX40-OX40L interactions: a promising therapeutic target for allergic diseases? *J Clin Invest* 2007; 117:3655–7.
  95. Saini S, Bloom DC, Bieneman A, Vasagar K, Trogias A, Schroeder J. Systemic effects of allergen exposure on blood basophil IL-13 secretion and FcεR1β. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114:768–74.
  96. Schroeder JT, Bieneman AP, Chichester KL, Breslin L, Xiao H, Liu MC. Pulmonary allergic responses augment interleukin-13 secretion by circulating basophils yet suppress interferon-α from plasmacytoid dendritic cells. *Clin Exp Allergy.* 2010; 40: 745-54.
  97. Li X, Yang A, Huang H, Zhang X, Town J, Davis B, Cockcroft DW, Gordon JR. Induction of type 2 T helper cell allergen tolerance by IL-10-differentiated regulatory dendritic cells. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2010; 42: 190-9.
  98. Kearley J, Barker JE, Robinson DS, Lloyd CM. Resolution of airway inflammation and hyperreactivity after in vivo transfer of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells is interleukin 10 dependent. *J Exp Med.* 2005; 202: 1539-47.
  99. 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;173:42-55.
  100. Rate A, Upham JW, Bosco A, McKenna KL, Holt PG. Airway epithelial cells regulate the functional phenotype of locally differentiating dendritic cells: implications for the pathogenesis of infectious and allergic airway disease. *J Immunol.* 2009;182:72-83.
  101. Matsumoto K, Fukuyama S, Eguchi-Tsuda M, Nakano T, Matsumoto T, Matsumura M, Moriwaki A, Kan-o K, Wada Y, Yagita H, Shin T, Pardoll DM, Patcharee R, Azuma M, Nakanishi Y, Inoue H. B7-DC induced by IL-13 works as a feedback regulator in the effector phase of allergic asthma. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008; 365: 170-5.
  102. Nakagome K, Okunishi K, Imamura M, Harada H, Matsumoto T, Tanaka R, Miyazaki J, Yamamoto K, Dohi M. IFN-γ attenuates antigen-induced

- overall immune response in the airway as a Th1-type immune regulatory cytokine. *J Immunol.* 2009; 183: 209-20.
- 103.** Heckman KL, Radhakrishnan S, Peikert T, Iijima K, McGregor HC, Bell MP, Kita H, Pease LR. T-bet expression by dendritic cells is required for the repolarization of allergic airway inflammation. *Eur J Immunol.* 2008;38:2464-74.
- 104.** Fogel-Petrovic M, Long JA, Misso NL, Foster PS, Bhoola KD, Thompson PJ. Physiological concentrations of transforming growth factor beta1 selectively inhibit human dendritic cell function. *Int Immunopharmacol.* 2007;7:1924-33.
- 105.** Casetti R, Agrati C, Wallace M, Sacchi A, Martini F, Martino A, Rinaldi A, Malkovsky M. Cutting edge: TGF-beta1 and IL-15 Induce FOXP3+ gammadelta regulatory T cells in the presence of antigen stimulation. *J Immunol.* 2009; 183: 3574-7.