

**T.C.  
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**ASTIMLI HASTALARDA  
SERUM PLASENTAL GROWTH FAKTÖR (PIGF),  
VASKÜLER ENDOTEL GROWTH FAKTÖR (VEGF)  
VE  
CD 95'İN KLİNİK TESTLERLE İLİŞKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ  
DR. MEHMET ÇALKAN**

**TEZ DANIŞMANI  
DOÇ. DR. FATMA TANELİ**

**MANİSA 2010**

## ÖNSÖZ

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda sürdürdüğüm uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini aktarırken verdikleri emek, gösterdikleri sevgi ve anlayıştan dolayı değerli hocalarım, Prof. Dr. Zeki ARI, Doç. Dr. Ahmet VAR, Doç. Dr. Cevval ULMAN, Doç. Dr. Ece ONUR'a, tez hocam ve danışmanım Doç. Dr. Fatma TANELİ'ye,

Asistanlığım boyunca aynı ortamı paylaştığım, birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum ve her zaman en içten desteklerini arkamda hissettiğim asistan arkadaşlarım; Dr. Özlem GÜNAY, Dr. Metin DEMİR, Dr. Nesrin ÖZLEN, Dr. Derya GÜLEÇ, Dr. Esat KILIÇ, Dr. Gürol Şahin ULUTAŞ, Dr. Ferda Doğan BOZYİĞİT, Dr. Nurser ARİFOĞLU, Dr. Ferhunde PULULAR, Dr. Soner ERDİN, Dr. Aysun BİLGİ, Dr. Sezen IRMAK, Dr. Turgut AKTAŞ, Dr. Sema BİLGE, Dr. Ceyhun GÖZÜKARA'ya,

Tüm klinik biyokimya laboratuvarı çalışanlarına,

Tezimin örnek toplanması aşamasındaki katkı ve desteklerinden dolayı Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı'ndan Uzm. Dr. Aylin ÖZGEN ve Dr. Mine İNCEOĞLU'na,

Yaşantımın her anında sevgi ve destekleriyle yanımda olan anneme ve babama,

Tanıdığım günden başlayıp, asistanlığım boyunca devam eden özveri, sabır ve sevgisi ile bana her konuda destek olan hayat arkadaşım, sevgili eşim Selvinaz'a ve yaşama sevincim oğlum Mehmet Efe ve kızım Ece Naz'a; sizden ayrı kaldığım zamana değmesi temennisiyse...

En içten teşekkür ve şükranlarımı sunarım.

**Dr. Mehmet ÇALKAN**

Manisa, 2010

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	IV
I. GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
II. GENEL BİLGİLER.....	3
II.1. Astım.....	3
II.1.1 Astım Tanımı .....	3
II.1.2 Astım Patogenezi .....	4
II.1.2.1 Hava Yolu İnflamasyonu .....	4
II.1.2.2 Bronş Aşırı Duyarlılığı ve Hava Yolu Obstrüksiyonu .....	6
II.1.3. Astımda Risk Faktörleri .....	7
II.1.3.1. Kişisel Faktörler .....	7
II.1.3.2. Çevresel Faktörler .....	7
II.1.4. Astım Patogenezinde Rol Alan Hücreler .....	8
II.1.5. Astım Patogenezinden Sorumlu Tutulan Mediatorler ve Etkileri .....	11
II.1.6 Astım Patogenezinde Apoptozis ve Neovaskülarizasyon.....	13
II.1.7 Astımda Yeni Damar Oluşumu.....	15
II.1.8. Astımın Klinik Belirtileri, Bulguları ve Tanısı.....	17
II.1.9. Astımında Tanı Testleri.....	17
II.1.10 Astım Şiddetinin Derecelendirilmesi :.....	17
II.2. CD4, CD8, CD25, CD45RO, CD95 Markerlarının Klinikteki Kullanımı .....	19
II.3. VEGF Ailesi ve Reseptörleri .....	20
II.3.1. VEGF Ailesi .....	20
II.3.2. VEGF Reseptörleri.....	22
II.4. PLGF .....	23
II. 5.High Sensitive -CRP.....	24

<b>III. GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	26
<b>III.1. Araç ve Gereçler</b> .....	26
<b>III.2 Yöntem</b> .....	26
<b>III.2.1 Çalışma Grupları</b> .....	26
<b>III.2.2 Solunum Fonksiyon Testleri</b> .....	28
<b>III.2.3. Kan Örneklerinin Alınması</b> .....	28
<b>III.2.4 Flow Sitometrik analizler</b> .....	29
<b>III.2.5 Biyokimyasal Analizler</b> .....	32
<b>III.2.5.1 VEGF Tayini</b> .....	32
<b>III.2.5.2 PLGF Tayini</b> .....	32
<b>III.2.5.3 VEGFR-1 Tayini</b> .....	33
<b>III.2.5.4 VEGFR-2 Tayini</b> .....	33
<b>III.2.6 Hs-CRP Analizi</b> .....	33
<b>III.3 İstatistiksel Analiz</b> .....	34
<b>IV. BULGULAR</b> .....	35
<b>V. TARTIŞMA</b> .....	55
<b>VI. SONUÇ VE ÖNERİLER</b> .....	64
<b>VII. ÖZET</b> .....	67
<b>VIII. İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY)</b> .....	69
<b>IX. KAYNAKLAR</b> .....	71

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

- ACE : Anjiotensin Dönüştürücü Enzim  
AİF : Apoptozis İndükleyici Faktör  
Apaf-1 : Apoptotik Proteaz Aktivatör Faktör-1  
APC : Antijen Sunan Hücreler  
BAL : Bronkoalveoler Lavaj Sıvısı  
CFU-EC : Colony-Forming Units of Endothelial-like Cells  
COX : Siklooksijenaz Enzimi  
CRP : C-reaktif Protein  
CV : Korelasyon Katsayısı  
ECFC : Endotelial Koloni Oluşturucu Hücreler  
ECP : Eozinofilik Katyonik Protein  
EDRF : Endotelial Kaynaklı Gevşetici Faktör  
EDTA : Etilen Diamin Tetra Asetikası  
ELISA : Enzim İmmun Sorbant Assay  
EGF: Epidermal Büyüme Faktörü  
ENT : Eozinofil Kaynaklı Nörotoksin  
EPC : Endotelial Pregonitör Hücre  
FcεRI : İmmünglobülin E Reseptörü  
FEV1 : 1. Saniyedeki Zorlu Vital Kapasite  
FGF-7 : Keratinosit Büyüme Faktörü  
FVC : Zorlu Vital Kapasite  
GINA : Astım İçin Küresel Girişim  
GMCSF : Granülosit-Makrofaj Koloni Stimülan Faktör  
HIV : İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü  
HLA CD : İnsan Lökosit Antijeni Hücre Ayırım Belirteci  
Hs-CRP : Yüksek Duyaylılıklı CRP  
IAP : Apoptozis İnhibitörleri

ICAM-1 : Hücre İçi Adezyon Molekülü-1  
IFN- $\gamma$  : İnterferon-  $\gamma$   
IgE : İmmünglobülin E  
IL : İnterlökin  
LT : Lökotrien  
MBP : Majör Bazik Protein  
MDC : Macrophage-Derived Chemokines  
MHC : Major Doku Uygunluk Kompleksi  
MMP : Metalloproteinaz  
NK : Doğal Öldürücü Hücre  
NO : Nitrik Oksit  
PAF : Trombosit Aktive Edici Faktör  
PDGF : Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü  
PEF : Zirve Ekspirasyon Akımı  
PG : Prostaglandin  
PIGF : Plasental Büyüme Faktörü  
SFT : Solunum Fonksiyon Testleri  
TCR : T Hücre Reseptörleri  
TGF-  $\beta$ 1: Transforming Büyüme Faktörü-  $\beta$ 1  
Th1-2 : T Helper Tip 1-2  
TNF- $\alpha$  : Tümör Nekrotizan Faktör  $\alpha$   
VCAM-1 : Vasküler Hücre Adhezyon Molekülü-1  
VEGF : Vasküler Endotel Büyüme Faktörü  
VEGFR-1 : Vasküler Endotel Büyüme Faktörü Reseptörü 1  
VEGFR-2 : Vasküler Endotel Büyüme Faktörü Reseptörü 2  
VWF : Von Willebrand Faktör

## I. GİRİŞ VE AMAÇ

Astım, T lenfositler, mast hücreleri ve eozinofiller başta olmak üzere birçok değişik hücrenin ve mediatörün sorumlu olduğu, ilerleyici, akciğerin yaygın obstrüksiyonu ile karakterize kronik inflamatuvar bir hastalıktır (1,2).

Kronik ve enflamatuvar bir hava yolu hastalığı olan astım da birçok hücre ve hücre bileşeninin rol oynadığı bilinmektedir. Özellikle gece yada sabah erken saatlerde meydana gelen tekrarlayan hışıltılı solunum, göğüste sıkışma hissi, nefes darlığı ve öksürük ataklarına neden olan hava yolu aşırı duyarlılığı kronik enflamasyon ile ilişkilidir. Bu ataklar genellikle akciğerde yaygın ama değişken ve çoğunlukla kendiliğinden veya tedaviyle geri dönüşlü bir hava yolu obstrüksiyonu ile ilişkilidir (2,3).

Astım prevalansı ve ağırlığı tüm dünyada giderek artmakta olan ve sık görülen bir solunum sistemi hastalığıdır. Astım prevalansı ülkeden ülkeye, bir ülkede bölgeler arasında farklı olabilmektedir. Ülkemizde prevalans %1,2 - %3,5 arasında değişmektedir. Çalışmamızı yaptığımız Manisa ilinde prevalans %1,2 olarak tespit edilmiştir. Bu yüksek oranlar çok sayıda insanın bu hastalıktan etkilendiğini bize göstermektedir (4,5).

Astım hastalığının kronik olması, uzun yıllar tedavi sürecini ve bu sırada da akciğerde oluşan yapısal değişiklikleri beraberinde getirmektedir. Bu yapısal değişiklikler arasında havayolu epitel değişiklikleri, ekstraselüler matriks birikimi ve mukus bezlerinin hipertrofisi gelişebilmekte, kalın retiküler bazal membran ve daha belirgin düz kas anormallikleri gözlemlenmektedir. En önemlisi de anjiogenez yani yeni damar oluşumları ve hava yollarının remodelizasyonu oluşmaktadır (6).

Astım hastalığı bronşiyal damarların önemli kantitatif ve kalitatif değişiklikler ile karakterizedir. Astım hastalarında havayolunda farklı düzeylerinde damar sayısında artış, damar duvarlar dilasyonu ve permeabilite artışı gözlenmektedir. Damar sayısının ve boyutunun artması havayolu kalınlığını arttırmakta ve hastalıkta ortaya çıkan inflamatuvar yanıtı daha da şiddetlendirmektedir. Vasküler endotelial büyüme faktörünün astım hastalığındaki vasküler yeniden şekillenmenin patogenezinde anahtar bir rol oynadığı düşünülmektedir (7).

Yeni damar oluşumu astım için kanıtlanmış bir süreçtir. Fakat bu sürecin ne zaman, nasıl başladığı, hangi astım derecesinde ve kaç yıl sonra oluştuğu, tedavi alan ve almayan hastalardaki süreci ve işleyişi, ve bunun gibi bir çok soru henüz tam olarak ortaya konamamıştır.

Yeni damar oluşum süreci çok komplike olup bir çok doku ve hücreyi içermektedir. Öncelikle kronik ve inflamatuvar süreç apoptozisi oluşturmakta, ardından kemik iliği ve immun sistem de bu sürece dahil olmaktadır. Sonuçta periferik kan lenfosit bileşimi ve aktivasyonunda değişiklikler olmakta bu değişimler hücre yüzey belirteçleri ile tesbit edilebilmektedir.

Astım dünya çapında yaklaşık 300 milyon kişiyi etkilemiştir. Her yıl dünyada 250 bin kişi bu hastalıktan ölmekte ve prevalans ile mortalite arasında bir bağlantı bulunmamaktadır (2). Hastalık insidansının yüksekliği ve hastalığın patofizyolojisinin hala tam anlaşılammış olması nedeniyle, bu konuda patofizyolojiye yönelik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmamızda, astım hastalarındaki remodelizasyon göstergelerinden olan vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF), Plakental büyüme faktörü (PLGF), vasküler endotel büyüme faktörü reseptörü-1 (VEGFR-1), vasküler endotel büyüme faktörü reseptörü-2 (VEGFR-2) gibi anjiogenik markırların ve bunlara ek olarak CD4, CD8, CD25, CD45RO, CD95 gibi hücre yüzey belirteçlerinin ve inflamasyon göstergesi hs-CRP'nin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu belirteçlerin ileride hastaların takip edilmesinde, yeni tedavi protokollerinin geliştirilmesinde ve yeni ilaçlar için yol gösterici olabileceğini düşünmekteyiz.



## II. GENEL BİLGİLER

### II.1. Astım

#### II.1.1 Astım Tanımı

Astım, çok eski tarihten beri bilinen, kronik seyirli bir hastalık olup, önemli morbidite sebepleri arasında yer almakta ve hastaların yaşam standardında, belirgin azalmaya neden olmaktadır. Astım; inflamasyonun ve hava yolu remodelizasyonunun olduğu, hava yollarının kronik inflamatuvar bir hastalığı olarak, tanımlanmaktadır (1). GINA (Global Initiative for Asthma) Birliğinin, 2010'da yapılan tanımlamasına göre "Astım, bir çok hücre ve hücre bileşeninin rol oynadığı, kronik enflamatuvar bir hava yolu hastalığıdır". Duyarlı kişilerde, özellikle gece veya sabaha karşı nöbetler halinde gelen hışıltılı solunum, nefes darlığı, göğüste sıkışma hissi ve öksürük yakınmaları ile ortaya çıkar, kendiliğinden veya uygulanan tedavi ile düzelir. Semptomlar kısmi veya tam reversibilite gösteren, yaygın ve değişken hava yolu obstrüksiyonuna bağlıdır. Sağlıklı kişileri etkilemeyecek düzeyde küçük uyarılar bile, kronik inflamasyon nedeniyle, duyarlılığı artmış hava yollarında bronkokonstrüktör yanıt oluşturur. Neticede astım tanımlamasında üç tipik özellik önem kazanır:

1. Kronik hava yolu inflamasyonu,
2. Bronşiyal hiperreaktivite
3. Diffüz reversibl hava yolu obstrüksiyonu (2).

#### İnsidans ve Epidemiyoloji :

Astım, üçyüz milyon kişiyi etkilediği tahmin edilen, dünya çapında bir sorundur. Astım küresel prevalansının, dünyanın farklı ülkelerinde yaşayan toplumlarda %1 ile %18 arasında değiştiği tahmin edilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü, astım nedeni ile her yıl onbeş milyon işlevsel kısıtlılığa göre düzeltilmiş, yaşam yılı kaybedildiğini tahmin etmektedir (2). Bu da toplam küresel hastalık yükünün %1'ine karşılık gelmektedir. Dünyada her yıl, astıma

bağlı ölüm vakası görüldüğü tahmin edilmektedir ve mortalite prevalans ile iyi bir ilişki göstermemektedir (2,3,4).

Astım, bütün ırklarda dünyanın her yerinde görülebilen bir hastalıktır. Yetişkinlerde prevalans verileri çok farklıdır ve genel olarak artma eğilimindedir. Astımdaki artışın genetik değil, çevresel faktörlere bağlı olduğu düşünülmektedir. Astım prevalansı, dünya üzerinde ülkeden ülkeye ve hatta aynı ülkenin bir bölgesinden, diğer bir bölgesine göre farklılıklar gösterir. Görülme sıklığı Eskimolar, Güney Doğu Asya'da %1'den düşükken, Yeni Zelanda ve Avustralya'nın bazı bölgelerinde %20'nin üzerine çıkabilmektedir (5). Değişen yaşam koşulları, çevre ve hava kirliliği, çocukluk döneminde geçirilen enfeksiyonlar, giderek daha çok kapalı ortamlarda yaşanması, günlük yaşamda azalan egzersiz, sigara, diyet alışkanlıklarındaki değişiklikler veya belki henüz tam olarak açıklanamamış genetik faktörler bu farklılıktan sorumlu tutulmaktadır (5).

Ülkemizde prevalans %1,2 - %3,5 arasında değişmektedir. Çalışmamızı yaptığımız Manisa ilinde prevalans %1,2 olarak tespit edilmiştir (4).

## **II.1.2 Astım Patogenezi**

Astım hastalığının temelinde yatan olay hava yollarının kronik inflamasyondur (6). Astım belirtileri ataklar halinde ortaya çıkar fakat inflamasyon süreklilik göstermektedir (2). Bronş ve bronşiyollerin lümeninden başlayan inflamasyon daha sonra epitel ve düz kas tabakasına yayılmaktadır (7). Astımın tüm klinik formlarında inflamasyon benzer özellik gösterir. İnflamasyon sürecinde, aktive olmuş mast hücreleri, aktif eozinofiller, doğal öldürücü T hücreleri ve Th2 (T helper 2) lenfositlerde, artış bulunmaktadır. Salgıladıkları mediyatörlerle havayollarının yapısal hücreleri de inflamasyona katkıda bulunur (2).

Bronşial astımın tanımda da belirtildiği gibi, 3 özelliği vardır:

1. Kronik hava yolu inflamasyonu
2. Bronşial hiperreaktivite
3. Hava yolu inflamasyonu

### **II.1.2.1 Hava Yolu İnflamasyonu**

Solunum ile alınan ve bronş mukozasına ulaşan antijenler, antijen sunan hücreler (Antijen Presenting Cell, APC) tarafından alınır ve peptidlere parçalanır. MHC sınıf II (Major

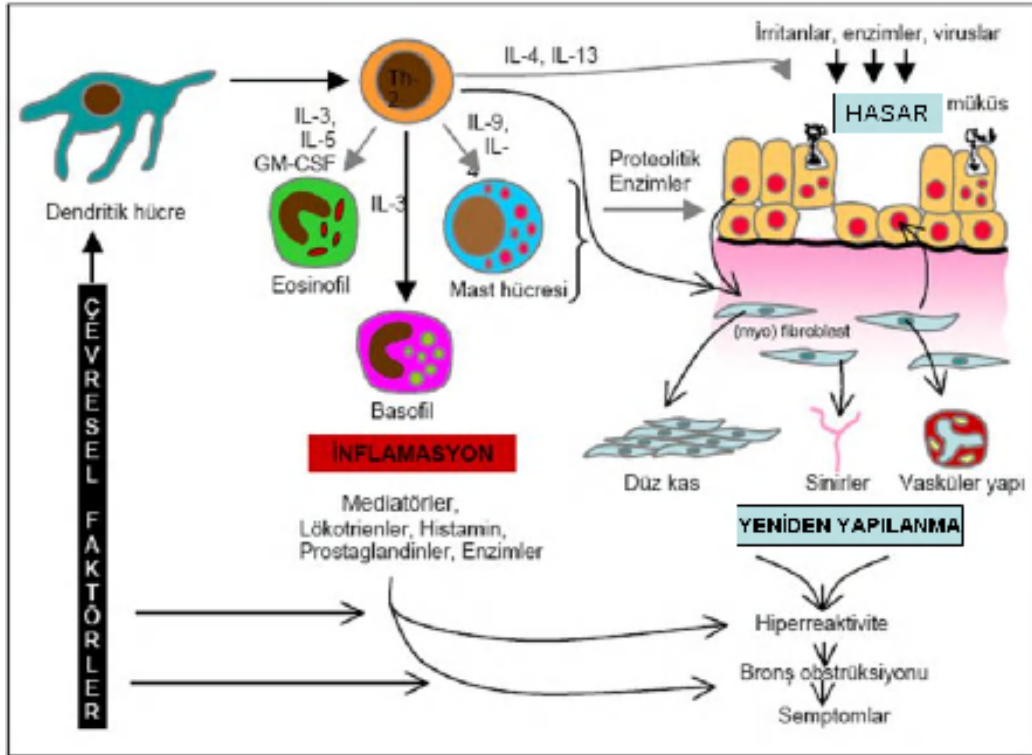
Histocompatibility Complex) antijeni ile CD4<sup>+</sup> T lenfositlerine sunulur. CD4<sup>+</sup> T lenfositler, T hücre reseptörleri (TCR) ile sunulan antijeni algılayıp aktivite kazanırlar, Th1 ve Th2 olmak üzere iki ayrı gruba diferansiye olurlar. Kronik iltihabi reaksiyonun sürdürülmesinde ve kontrolünde aktive T helper lenfositlerin önemi büyüktür. Th1'ler hücrel sitotoksiste, Th2'ler immünglobülin E (IgE) sentezinin yönetimiyle ilgilidir. Th2'ler IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13 ile IgE sentezini artırır. Tümör nekrotizan faktör  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), GMCSF (Granülosit-makrofaj koloni stimülan faktör), IL-3 her iki Th alt grubunda da yapılır. IL-9 ve IL-4 mast hücre maturasyonunda rol alırken, IL-3, IL-5, GMCSF eozinofillerin diferansiyasyon ve maturasyonunda, IL-6 eozinofil ve mast hücrelerin aktivasyonunda önemlidir. IL-4 ve IL-13, B lenfositlerden IgE oluşumunu aktive etmektedir (8).

Astımlı hastaların mukozal biyopsi ve bronkoalveolarlavaj incelemelerinde bronş mukozasında Th2 lenfositlerin arttığı farklı çalışmalarda gösterilmiştir. Th2 inflamasyonun düzenlenmesinden sorumlu hücrelerdir. Th2 kaynaklı sitokinlerden IL-4 ve IL-13, normal koşullarda IgG ve IgM üreten B lenfositleri uyararak bu hücreleri IgE sentezlemeye yöneltirler. IL-4 ve IL-13 atopinin ortaya çıkışında rol alan sitokinlerdir. Th2 kaynaklı diğer sitokinler olan IL-5, IL-3 ve GMCSF ise eozinofil maturasyonu, inflamasyon bölgesinde birikme, aktivasyonun ve yaşam sürelerinin uzamasını sağlayarak astımda hava yollarında oluşan eozinofilik inflamasyonda önemli rol alırlar (6).

Th2 lenfositlerin uyarısı ile B lenfositlerden aşırı miktarda IgE sentezlenmeye başlar. Serum total ve spesifik IgE düzeyleri çok yükselir. Alerjen ile yeniden temas ise mast hücrelerin degranülasyonuna neden olur. Histamin, triptaz gibi mediatörler hücre dışına çıkarken, IgE uyarısı ile lökotrien ve prostaglandinler gibi yeni mediatörler de sentez edilir. Mast hücre kaynaklı bu mediatörler bronş mukozasında vazodilatasyon, ödem, mukus sekresyonu ve bronkospazm oluşturarak astımlı hastalarda akut ataklara neden olurlar. Mast hücreleri ve Th2 lenfositlerden açığa çıkan sitokinler mukozaya eozinofillerin göçüne neden olurlar (9).

Eozinofiller sitokinlerin (IL-5) uyarısı ile kemik iliğinde diferansiye olup maturasyonunu tamamlayıp dolaşıma geçerler, yüzeylerinde bulunan L-selektin ve Sialyl-Lex aracılığı ile endotelde bulunan E-selektine bağlanırlar. Eozinofiller adezyon molekülleri aracılığı ile endoteli geçerek interstisyel dokuya gelirler (6).

Akut inflamatuvar ataklar ve kronik inflamasyon sonucunda bronş mukozası hasar görür. Oluşan bu zedelenmeyi onarmak amacıyla; subepitelyal fibrozis, bronş düz kas hipertrofisi ve hiperplazisi, goblet hücre hipertrofisi ve yeni damar oluşumları gibi kalıcı yapısal değişiklikler (remodelling) ortaya çıkar (şekil 1) (10).



Şekil 1: Astımda hava yolu inflamasyonu (1)

### II.1.2.2 Bronş Aşırı Duyarlılığı ve Hava Yolu Obstrüksiyonu

Bronşial hiperreaktivite, sağlıklı kişileri etkilemeyecek kadar küçük uyarıların, duyarlılığı artan hava yollarında, aşırı bronkokonstrüktör yanıt vermesidir. Kronik hava yolu inflamasyonu, bronş çapında daralma ile birlikte, bronş epitel yıkımına da neden olarak, bronşial aşırı duyarlılığın oluşmasında rol oynar. Epitel devamlılığının bozulması sonucu, myelinsiz duyu sinirlerinin uçları açığa çıkar. Toz, duman, sülfürdioksit gibi nonspesifik uyarılar bu duyu sinirlerine çok daha kolay ulaşırlar, sonuçta kolinerjik afferent uyarı oluşur. Vagal sinir ile gelen efferentlerle oluşan akson refleksi, bronş düz kasının kasılmasına yol açar. Epitel harabiyeti ile bronş düz kas tonusu artar. Bronş aşırı duyarlılığı, kronik inflamasyon ve yapısal değişiklikler sonucu artmış hale gelir ve hava yolları, küçük uyarılarla bile daralabilme özelliği kazanır (10).

Tetikleyici ajanlarla karşılaşma sonrası gelişen akut bronkokonstrüksiyon, mukoza ödemi, mukus tıkaçları ve hava yollarındaki yapısal değişikliklere bağlı olarak, astımlı hastalarda hava yolu obstrüksiyonu gelişmektedir(11).

### II.1.3. Astımda Risk Faktörleri

Astım risk faktörleri kişisel ve çevresel faktörler olarak ikiye ayrılmıştır. Fakat bu faktörler astımın kaynağını tam olarak açıklamaya yetmemektedir(2).

#### II.1.3.1. Kişisel Faktörler

**Genetik Yatkınlık:** Aile içerisinde birikimin olması ve tek yumurta ikizlerinde daha sık olması, astımın genetik altyapısı olduğuna işaret etmektedir (7). Astım, birden fazla geni içeren kalıtsal faktörlerden etkilenmektedir (2). Astım ve astımla ilgili fenotiplerle ilişkili yüzden fazla gen olabileceği bildirilmiştir (12). Farklı etnik gruplarda farklı genlerin astım gelişiminden sorumlu olabileceği düşünülmektedir (2).

Astımla genlerin ilişkisi, dört başlıkta incelenebilir: allerjene spesifik IgE antikollarının yapımı (atopi); havayollarının aşırı duyarlılığı; inflamatuvar mediyatörlerin oluşumu (sitokinler, kemokinler, büyüme faktörleri gibi) ve Th1 ya da Th2 yönünde farklılaşmayı belirleyen faktörler (2). Astım kalıtsal bir hastalık olarak incelendiğinde; genetik özellikler tek başına değerlendirilirse astım %5-10 oranında görülür, ebeveynlerden birinin astımlı olması durumunda bu oran %20-30'a yükselmekte, ebeveynlerden her ikisinin astımlı olması durumunda ise %60- 70 gibi oldukça yüksek rakamlara ulaşmaktadır (5,13).

**Obesite:** Obesite, astım için risk faktörü olarak gösterilmiştir. Leptin gibi bazı mediatörler, havayolu fonksiyonlarını etkilemekte ve astım gelişme ihtimalini arttırmaktadır (2).

**Cinsiyet:** Astım prevalansı 14 yaş öncesi erkek çocuklarda, kız çocukların 2 katıdır (7). Bu yükseklik kısmen erkek çocuklardaki artmış atopi prevalansı ile ilgili olabilir. Bununla birlikte, morfometrik çalışmalar, erkek çocukların havayollarının kızlara göre daha dar olduğunu ve dolayısıyla havayolu obstrüksiyonuna karşı daha duyarlı olduğunu göstermektedir (14). Erişkinlerde, astım kadınlarda daha sık görülmektedir (7). Kadın hakimiyeti 40 yaş üstü erişkinlerde daha da belirgin hale gelmektedir (14).

#### II.1.3.2. Çevresel Faktörler

Astım gelişmesinde çevresel faktörler diğer faktörlere eklenerek riski arttırmaktadır. Astım semptomlarının oluşmasında esas sebep hava kirliliği ve allerjenler gibi çevresel faktörlerdir (2,12).

**Allerjenlerle Temas:** Ev içi ve ev dışı allerjenler, astım gelişiminde etkili olabilir. Ev içi allerjenler arasında, hayvan allerjenleri (kedi, köpek, kuştüyü vb), ev tozu akarları, hamamböcekleri, küf mantarları (Alternaria, Aspergillus, Cladosporium gibi), mayalar sayılabilir (2). Yapılan çalışmalarda, ülkemizde hastaların ev içi allerjenler arasında en yüksek oranda ev tozu akarlarına karşı duyarlılıkları olduğu gösterilmiştir (15,16). Ev dışı allerjenler arasında en sık polenler başta olmak üzere mantarlar da bulunmaktadır. Ülkemizde çam, selvi, meşe, çınar, çayır otu, akkazayağı, ısırgan, ayçiçeği, pelin otu ve pıtrak allerjisine sıklıkla rastlanmaktadır (2, 15, 16, 17, 18).

**Sigara:** Doğum öncesi ve doğum sonrası dönemde sigara maruziyeti, astım riskini arttırmaktadır. Sigara dumanına maruziyet pasif yada aktif içicilikle olabilmektedir (2). Sigara, persistan havayolu inflamasyonuna neden olur. Bunun yanında sigara, bronş hiperreaktivitesi riskini arttırmakta, solunum fonksiyonlarını bozmakta, total IgE'yi yükseltmekte ve astımlı hastaların ağırlık derecesini arttırarak tedaviye yanıtı azaltmaktadır (19). Sigara içen astımlı hastaların balgamlarında IL-8 ve eozinofilik katyonik protein (ECP) düzeyleri artmış ve solunum fonksiyonları balgamdaki IL-8 ve nötrofil sayısı ile ters ilişkilidir (20).

**İnfeksiyonlar:** Çocuklukta geçirilen bazı viral solunum yolu infeksiyonlarının (solunumsal sinsitiyal virus, Parainfluenza virüsü gibi), hışıltıya neden olabilmektedir (2). Hijyen hipotezi'ne göre, erken çocuklukta infeksiyonlara maruz kalınmasının astım ve diğer alerjik hastalıklar açısından koruyucu olabileceğini düşündüren çalışmalar mevcuttur (18).

**Mesleksel faktörler:** Mesleksel astım ile ilişkili 300'den fazla madde saptanmıştır. Fırıncılık, çiftçilik, marangozluk, boyacılık, besin işleme, kauçuk endüstrisi ve plastik üretimi gibi iş kolları, mesleksel astım gelişimi açısından özellikle risk taşımaktadır (2, 21, 22).

**Diyet:** Özellikle anne sütü ile karşılaştırıldığında inek sütü, soya proteini gibi formüla gıda ile beslenen bebeklerde, erken çocuklukta wheezinge sık rastlanmaktadır (2, 23).

#### **II.1.4. Astım Patogenezinde Rol Alan Hücreler**

**Epitel Hücresi:** Epitel dokusu, burundan terminal solunum yollarının sonuna kadar aktif olarak uzanır. Silialı ve siliasız epitel yüzeyinde, sekretuar bezler ve sekretuar goblet hücre kaynaklı iki katlı mukus tabakası vardır. Epitel hücreleri birbirlerine desmozom adı verilen adezyon molekülleri ile, bazal membrana ise hemidesmozomlarla sıkı sıkıya bağlıdır. Epitel hücreleri bazı mediyatörler aracılığı ile düz kas hücrelerinin, sekretuar bezlerin, sinirlerin ve vasküler dokunun kontrolünü sağlar (24).

Astımda sitokinler kemokinler ve lipid mediatörler olmak üzere bir çok inflamatuvar markır salgılanır. Epitel hücresi virüsler ve havadaki toz ve alerjenlerden de etkilenmektedir (1, 2, 9).

**Mast Hücreleri:** Ani aşırı duyarlılık reaksiyonlarının ana efektör hücreleridir. Kemik iliği, periferik kan ve kordon kanında bulunan CD34+ progenitor (öncül) hücrelerden köken alırlar. Kemik iliğini terk eden öncül mast hücresi, periferik dolaşım yoluyla dokuya taşınır ve olgunlaşır. Mast hücreleri, yüzeylerindeki yüksek afiniteli IgE reseptörü (FcεRI) ile güçlü bir şekilde IgE'yi bağlar. Antijenle bağlandığında mast hücrelerinin granülleri büyür, granüller içindeki kristaller çözünür (7). Alerjenler ve ozmotik uyarılarla aktive edilen mast hücrelerinden pek çok mediyatör (histamin, kininler, sisteinil lökotrienler (LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub>), prostaglandin D<sub>2</sub> (PGD<sub>2</sub>), prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>), interlökinler (IL-3, IL-4, IL-5) serbestleşir. Hava yolu düz kasındaki artmış mast hücre sayısı, hava yolu hipersensitivitesi ile ilgilidir (2,7).

**Eozinofiller:** Hava yolu epitel hücrelerinin hasarlanması ile hava yollarında eozinofil sayısı artmaktadır. Eozinofiller yüzeylerinde IgE için düşük afiniteli reseptör taşırlar, uyarıldıkları zaman endoteldeki ICAM-1 (Hücre içi adhezyon molekülü-1) ve integrin ailesindeki adhezyon molekülleri aracılığıyla dokulara göç ederler. Büyüme faktörleri ve hava yolu remodelizasyonunu düzenleyen mediatörleri salıverir. Salıverdikleri lökotrienlerle bronkokonstriksiyon ve damar geçirgenliğinde artışa neden olurlar. Majör bazik protein (MBP), ECP, eozinofil kaynaklı nörotoksin (ENT) gibi mediyatörler de epitel aralıklarının genişlemesine ve epitel hücrelerinin dökülmesine neden olurlar. Ayrıca IL-1 , IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-16, granülosit-makrofaj koloni stimulan faktör (GM-CSF), TNF-α kaynağıdır (1, 7, 13).

**T-lenfositleri:** Astım hastalarının bronş duvarında bol miktarda T lenfosit ve az miktarda B lenfosit bulunmaktadır. Havayolundan alınan antijen, antijen sunan hücreler (dendritik hücreler, makrofajlar, B-lenfositleri ve epitel hücreleri) aracılığıyla T lenfositlerine (Th0) sunulur. Ortamda interferon- γ (IFN-γ) ve IL-12 fazla ise, Th0 hücreleri, CD4+ T-lenfositlerinin Th1 alt grubu olarak farklılaşır. Ortamda IL-4 fazlaysa ve IL-12 yoksa, Th0 hücreler, Th2 yönünde farklılaşır. Th1 hücreler IFN-γ, TNF-β, IL-2, IL-12, IL-18 gibi sitokinler salgılayarak gecikmiş tip aşırı duyarlılık reaksiyonuna neden olurken, Th2 alt grubundan IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-13, IL-16 salgılanır. IL-3 mast hücresi aktivasyonu yapar. IL-5 eozinofil üretimini stimüle eder, eozinofil büyüme ve farklılaşmasını uyarır. IL-5, astımda eozinofil ömrünü arttıran başlıca sitokindir. Eozinofil sürvisindeki bu artışın nedeni, programlı hücre ölümünün önlenmesidir. IL-4, Th2 hücrelerin gelişiminde rol alır. IL-4

ayrıca, B lenfositleri için gelişme faktörüdür; IgE ve IgG4 tipi antikorları gelişimini uyarır; makrofajlarda düşük afiniteli IgE reseptörü (CD23) ekspresyonunu indükler; Th1 inhibisyonu yapar; fibroblast kemotaksisine neden olur; ICAM-1 ve vasküler hücre adhezyon molekülü-1 (VCAM-1) ekspresyonunu artırır. IL-6, IL-4'e bağlı IgE sentezinde önemli bir kofaktördür. T-lenfosit aktivasyonu, büyümesi ve farklılaşmasında rol alır. IL-6 ayrıca, hepatositlerde akut faz proteinlerinin C-reaktif protein (CRP), fibrinojen, C3, sentezini de indükler (1, 2, 7, 25).

**Dendritik Hücreler:** Havayollarındaki allerjenleri fagosite ederek bölgesel lenf nodlarına taşır, uyarılmamış T-lenfositlerinin Th2 yönünde farklılaşmasına neden olur (2,7).

**Makrofajlar:** Düşük afiniteli IgE reseptörleri vasıtasıyla allerjenler tarafından uyarılır. Uyarılmış makrofajlardan prostaglandinler, lökotrienler, tromboksan A2, trombosit aktive edici faktör (PAF), IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  ve GM-CSF salınır (2,7).

**Nötrofiller:** Ağır astımlı ve sigara içen astımlıların hava yollarında ve balgamda nötrofil sayısı artmıştır. Nötrofiller, allerjen uyarısı sonrası havayolu duvarına ilk geçen ve ilk kaybolan hücrelerdir. Bu hücrelerin patofizyolojik rolü belirsizdir (2,7).

**Havayolu Düz Kas Hücreleri:** Astımlı hastalarda, epitel hücrelerine benzer inflamatuvar mediatörleri ifade ederler. Epitel ve inflamatuvar hücrelerden köken alan büyüme faktörleri, epidermal büyüme faktörü, fibroblast büyüme faktörü, LTD4 ve triptaz gibi etkenlerle bronş duvarı düz kasında hipertrofi ve hiperplazi görülür. Hem hipertrofik, hem hiperplazik bu kaslar, permeabilitesi artmış olan epitelin aralıklarından geçen iritanlarla kolayca kasılır. Bu olaya bronş aşırı duyarlılığı denir (7).

**Endotel:** Tek katlı yassı epitel dokusu olan endotel mezoderm kaynaklıdır. Arter duvarının komponentleri arasında temel bariyer görevi vardır. Endotel hücreleri, özellikle tip IV kollagen içeren bazal membran üzerinde bulunur. Endotel, hemostaz ile immünolojik ve metabolik birçok olayda ayrıca koagülasyon, fibrinoliz, vasküler büyüme, vasküler tonus, yeniden yapılanma ve immün yanıtların düzenlenmesinde görevli dinamik ve yaşamsal önemi olan bir organdır. Endotel, özellikle trombosit agregasyonunu inhibe eden Prostoglandin I2 (PGI2) oluşturma kapasitesi sayesinde nontrombojenik yüzey sağlar, aynı zamanda yüzeyinde heparan sülfat içerdiğinden nontrombojendir. Endotel hücreleri endotel kaynaklı relaksasyon faktörü (EDRF) sayesinde güçlü bir vazodilatatör görev alır. Endotel tarafından EDRF formasyonu, arteriel homeostazda vazokonstriksiyon ve vazodilatasyon arasındaki dengenin sürdürülmesinde çok önemlidir. Endotel hücreleri ayrıca Von Willebrand faktör (VWF), endotelin, anjiotensin converting enzim (ACE) ve trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF) gibi vazoaktif ajanları da sekrete eder. Endotel disfonksiyonu, etkileşim içinde bulunduğu birçok faktörün etkisi ile meydana gelmektedir. Sitokinler, PDGF, ACE, ET1 ve TXA2



endotel disfonksiyonunu arttırlarken; nitrik oksit (NO), prostasiklin ve büyüme inhibitörleri gibi maddeler endotel disfonksiyonunu azaltırlar. Lipoproteinler, sitokinler, türbülans gibi hemodinamik kuvvetler, enfeksiyonlar, sigara, homosistein ve ilaçlar ise endotel disfonksiyonuna yol açan diğer patolojik etkenlerdir. Endotel disfonksiyonu vazokonstriksiyon, trombosit ve monosit adhezyonu, vasküler düz kas hücre proliferasyonu, lökosit adhezyonu, LDL oksidasyonu ve metalloproteinaz (MMP) aktivasyonu ile sonuçlanmaktadır (26).

**Fibroblastlar ve Miyofibroblastlar:** Havayolu yeniden yapılanmasında rolü olan bağ dokusu elemanlarını (kollajen, proteoglikan) üretirler, bu sayede hava yolu remodelizasyonuna katkıda bulunurlar (2,7).

**Havayolu sinir sistemi:** Kolinergic sinirler aktive olduklarında bronkokonstriksiyon ve mukus sekresyonuna neden olurlar. Duyusal sinirleri aktive olduklarında nötrofillerin inflamatuvar stimulusu gibi sebeplerle öksürük göğüs sıkışması ve inflamatuvar nöropeptitlerin salgılanmasına neden olurlar (2).

### II.1.5. Astım Patogenezinin Sorumlu Tutulan Mediyatörler ve Etkileri

**Kemokinler:** özellikle hava yolu epitel hücreleri tarafından salgılanırlar, hava yolu inflamasyonunda önemli rolleri vardır. Eotaksin eozinofillerle ilişkili iken timus ve aktivasyon ilişkili kemokin ve macrophage-derived chemokines (MDC) Th2 hücreleriyle ilişkilidir (2).

**Sisteinil lökotrienler:** Mast hücreleri ve eosinofillerden salgılanan sisteinil lökotrienler(LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub>) araşidonik asidin lipooksijenasyonundan meydana gelen, insan havayollarında potent konstriktör etkiye sahip mediyatörlerdir. Sisteinil lökotrienler histamine oranla çok daha güçlü bronkokonstriktör mediyatördürler (2, 27, 28)

**Sitokinler:** Sitokinler kronik inflamasyonun mediyatörleridir. Th 2 lenfositler ürettikleri sitokinler (IL-4, IL-5) aracılığı ile havayolu inflamatuvar hastalıklarında önemli rol oynarlar. Pek çok çalışmada hava yolu hastalıklarında anahtar rol oynayan bu sitokinlerin blokajı hedeflenmektedir. Birçok inflamatuvar hücre (makrofajlar, mast hücreleri, eozinofiller ve lenfositler) bu proteinleri sentez edebilme ve salgılayabilme özelliğine sahiptir. Epitel hücreleri ve düz kas hücreleri gibi yapısal hücreler de çeşitli sitokinleri salgılayabilirler ve bu nedenle kronik inflamasyona bir ölçüde iştirak ederler. Histamin ve lökotrienler gibi inflamatuvar mediyatörler akut ve subakut inflamatuvar cevap ile astım ekzacerbasyonunda önemli rol oynasalar da kronik inflamasyonda sitokinler baş rodedir. T lenfositlerince

salgılanan sitokinler astımda önemli rol oynarlar: IL-3 (dokuda mast hücrelerinin yaşam sürelerini belirler), IL-4, IL-13 (IgE üretimi için B lenfosit dönüşümünü sağlar) ve IL-5 (eozinofillerin değişimi ve yaşam sürelerinde etkili). Semptomatik astımlı hastaların elde edilen bronş biyopsilerinde lenfositlerde IL-5 üretiminde artış olduğu gösterilmiştir. IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$  ve GM-CSF gibi diğer sitokinler makrofajlar ve epitel hücrelerini de içeren pek çok farklı hücreden salgılanabilirler ve inflamatuvar cevabın arttırılmasında önemli rol oynarlar (29). İnflamatuvar cevap üzerine inhibitör etkiye sahip sitokinler de vardır. IL-10 güçlü bir anti-inflamatuvar sitokindir. Astımda salgılanmasında azalma söz konusudur ve bu durum astımın şiddeti ile ilişkilidir. Interferon- $\gamma$  ve IL-12, Th<sub>2</sub> hücre oluşumunu inhibe ederler ve anti-inflamatuvar tedavide kullanılırlar (29).

**Histamin:** Histamin ilk olarak memeli dokularında 1907 yılında sentez edilmiştir. Histamin astımın patofizyolojisinde ilk tanımlanan mediyatördür. Havayollarında 3 reseptör üzerinden farklı etkiler oluşturur. H<sub>1</sub> reseptörleri bronkokonstriksiyon, duyuşal reflekslerde aktivasyon, bronşial damarların vazodilatasyon ve vazokonstriksiyonu ile havayollarında mikrovasküler kaçağa neden olur. H<sub>2</sub> reseptörleri mukus sekresyonu ile bazı türlerde vazodilatasyon oluşturur. H<sub>3</sub> reseptörleri ise kolinerjik ve duyuşal sinirlerin düzenlenmesine aracılık eder. Tüm bu etkilere rağmen antihistaminik ajanlar astımın tedavisinde hayal kırıklığı yaratmaktadır (29).

**Nitrik oksit:** NO, nitrik oksit sentetaz aracılığı ile havayollarındaki pek çok hücre tarafından argininden sentez edilir. Enzimin indüklenebilir formu (iNOS) astımlı hastalarda epitel hücreleri ve inflamatuvar hücrelerce üretilir ve havayolu epitel hücrelerindeki sitokinlerce indüklenir. Astımlı hastaların ekshale ettikleri havada NO konsantrasyonlarında artışlar tespit edilmiştir. NO'in kendisi güçlü bir vazodilatördür. NO inhalasyonu pulmoner arter basınçlarında azalmaya neden olur ve oksijenizasyonu düzeltir. Ekshale edilen NO ile astım tedavisinin etkinliği değerlendirilir (2,29).

**Prostanoidler:** Akciğerlerdeki pek çok sabit ve inflamatuvar hücre değişik prostanoidleri salgılayabilir. Prostanoidler (prostoglandin ve tromboksan) akciğerlerde yaygın olarak bulunan siklooksijenaz (COX) enzimi aracılığı ile araşidonik asitten sentez edilirler. COX-1 enzimi prostaglandinlerin düşük bazal seviyelerinde salgılanır, oysa COX-2 sitokinler ve endotoksinlerce indüklenir. PGD<sub>2</sub>, PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  ve TxA<sub>2</sub> güçlü bronkokonstriktördürler. İpoprostanlar, prostanoidlerin yeni bir sınıfıdır ve araşidonik asidin oksidasyonu aracılığı ile non-enzimatik olarak oluşturulur. Bunların en yaygını 8-isoprostan (8-epi-PGF<sub>2( $\alpha$ )</sub>)'dır.

Tromboksan A<sub>2</sub> reseptörleri üzerinden etki gösterir ve insan hava-yollarının güçlü bir konstriktörüdür (2,29).

**Endotelin:** Güçlü bronkokonstriktör ve vazokonstriktör olan endotelin peptid yapıda bir mediyatördür. Üç farklı alt tipi tanımlanmıştır (ET-1, ET-2, ET-3). Havayolu düz kas hücre proliferasyonu ve fibrozis oluşumuna da katkıda bulunur. Bu nedenle astımda kronik inflamasyonda rol oynuyor olabilir. Endotelin havayolu düz kas tonusunu, bu hücrelerin üzerindeki reseptörleri direkt olarak etkileyerek veya kolinerjik sinirlerden asetilkolin salınımını artırması aracılığı ile indirekt olarak etkiler (1, 29). Astımda havayolu epitel hücrelerince endotelin salınmasında artış olduğunu gösteren kanıtlar vardır. Ayrıca KOAH'lı hastaların balgam ve plazma seviyelerinde de endotelin seviyelerinde artışlar gösterilmiştir (29).

## II.1.6 Astım Patogenezinde Apoptozis ve Neovaskülarizasyon

### Apoptozis

Vertebralı hücrelerinde ölüm nekroz ve apoptoz ile olur. Nekroz hücrelerde iskemi, yüksek ısıya maruz kalma ve enfeksiyon gibi kimyasal, fizik ve biyolojik etkilerle ortaya çıkan patolojik bir süreçtir. Nekrozu çok defa inflamatuvar bir cevap izler. Apoptoz ise, fizyolojik hücre ölümü olup, hücreden hücreye genetik olarak aktarılır. Hücrenin kendisini öldürmeye karar verdiği ve genetik olarak kontrol edilen aktif ve dinamik bir olaydır. Hem fizyolojik, hem de patolojik durumlarda ortaya çıkabilir. Apoptotik hücreler hızlı bir şekilde fagosite edilerek, ölü hücreden immünojenik ve toksik intrasellüler materyalin salınımı önlenmiş olur (30,31).

Nükleuslu birçok hücrenin yaşamı apoptoz ile sona erer. Bu hücreler, kendilerini tahrip etmeye hazır genleri ve proteinleri (p53, c-myc, Fas, FasI) sentezlerler. Apoptozu önleyenler genler Bcl-2 ailesi (Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-W, Bfl-1, Bag-I, Mcl-I ve A1) içinde, apoptozu indükleyenler Bax, Bak, Bcl-x, Bad, Bid, Bik ve Hrk'dir. Bcl-2 gen ailesi tarafından kodlanan bir çok protein, ağırlıklı olarak mitokondrilerin dış membranında lokalize halde bulunur. Kaspazlar, zimojen yani inaktif perkürsör olarak sitoplazmada bulunan ve aktif merkezlerinde sisteinin yer aldığından sistein proteazlar olarak da adlandırılan bir grup enzimlerdir. Çok sayıda kaspaz tanımlanmıştır ve çoğu apoptoziste rol almaktadır. Kaspazlar birbirlerini aktifleştirerek proteolitik bir kaskada sebep olurlar (31, 32). Başlatıcı kaspazlar proteolitik bir kaskadın oluşmasını sağlayıp, efektör kaspazların aktive olmalarını sağlarlar.

Kaspaz kaskadı sitokrom-c'nin sitoplazmaya saliverilmesiyle prokaspaz-9'un aktivasyonu yoluyla aktifleştirildiği gibi, kaspazların kendileri de sitokrom-c'nin saliverilmesine neden olabilirler. Bir kaspaz inhibitör ailesi olan apoptozis inhibitörleri (IAP) kaspazları selektif olarak inhibe ederler. Bu şekilde apoptotik mekanizmayı durdururlar. Bu inhibitörler birçok malign hücreler tarafından aşırı eksprese edilmektedirler. IAP'leri ayrıca hücre siklusunu da etkileyerek apoptozisi durdurabilmektedirler. Kaspaz kaskadı tetiklenince hücre ölümü ile ilgili işlemler artık geri dönemez (31, 32).

Sitokrom-c, apoptozis sürecinde önemli bir yere sahiptir. Sitokrom-c'nin mitokondriden sitoplazmaya saliverilmesi apoptozise giden bir hücrede irreverzibl bir döneme girildiğini işaret eder. Sağlıklı hücrelerde Bcl-2 benzeri öncül proteinlerden uzakta tutulan BH3- proteinleri apoptotik hücrede bir zimojen olarak sunulur. Apoptotik bir sinyalden sonra, serbestleştirilmiş BH3- proteinleri mitokondri üzerindeki Bcl-2 ile birlikte ve mitokondri dış membranı üzerindeki Bak ve Bax oligomerlerinin etkisiyle mitokondri geçirgen hale gelir. Bu da sitokrom-c, sitoplazmik protein olan Apaf-1 (apoptotik proteaz aktivatör faktör-1) ve prokaspaz-9'un heptamerik formasyonunu arttıran kaspaz-3'ü aktifler. Ardından ATP'nin de katılımıyla apoptozom adı verilen bir kompleks oluşur (32). Serbestleşen Diablo/Smac ve Omi/Htr2 sitozolde IAP'ı tutar, AİF (Apoptozis indükleyici faktör) ve endonükleaz-G nükleusa girer iken, DNA'da parçalanmaya yardım eder. Buraya kadarki mekanizma kaspaz bağımlı apoptozisi gösterir. Oysa kaspaz bağımsız apoptozisin varlığı da bilinmektedir. Kaspaz bağımsız apoptozis yine mitokondriden saliverilen bir faktör olan AİF'ün etkisiyle gerçekleştirilir (31, 32).

Apoptozisin immün sistemde iki önemli fonksiyonu bulunur; 1. Timus ve kemik iliğinde otoreaktif olan hücrelerin temizlenmesini sağlar. 2. Periferik immün sistemde lenfositlerin birikimini engeller. Lenfosit apoptozisinden sorumlu olan esas ajan Fas reseptör ve onun ligandı olan FasL (CD95L)'dir. Karşılaşılan antijen miktarı apoptozisin başlatılmasında etkilidir. Ne kadar çok antijen varsa, TNF gibi ölüm sitokinleri ve bu sitokinlerin reseptörlerinin ekspresyonu da o kadar artar. Ortamda sürekli antijen olmasının, lenfositlerin aşırı çoğalmasına yol açması apoptozisin başlaması ile engellenir (33).

Astım tedavisinde kullanılan teofilin, kortikosteroid, fosfodiesteraz-IV inhibitörleri gibi ilaçlar eozinofil ve T lenfositlerde apoptozise yol açabilmektedir (34,35). Apoptozisin azalması inflamasyonun kronikleşmesine ve hastalığın ciddiyetinin artmasına neden olmaktadır. Hava yolunda apoptozisin azalmasının bir diğer nedeni çeşitli inflamatuvar hücre tiplerinin yaşam sürelerinin artışı ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (25, 31).

T lenfositler (Th2) sitokinleri aracılığıyla nötrofil, mast hücresi gibi diğer inflamatuvar hücreleri de etkileyerek, bu hücrelerin lokal infiltrasyonları yoluyla allerjik inflamasyonda orkestra şefi rolünü üstlenirler. T lenfositlerin (özellikle CD4+ hücrelerin) defektif apoptozisinin, allerjik astımlı hastalarda aktive T hücrelerinin yaşam süresinin uzamasını açıklayabileceği ileri sürülmüştür. Ayrıca astımlı hastalarda aktive lenfositlerin apoptozisinde azalmanın inflamasyonun sürmesindeki önemi üzerinde durulmaktadır (36).

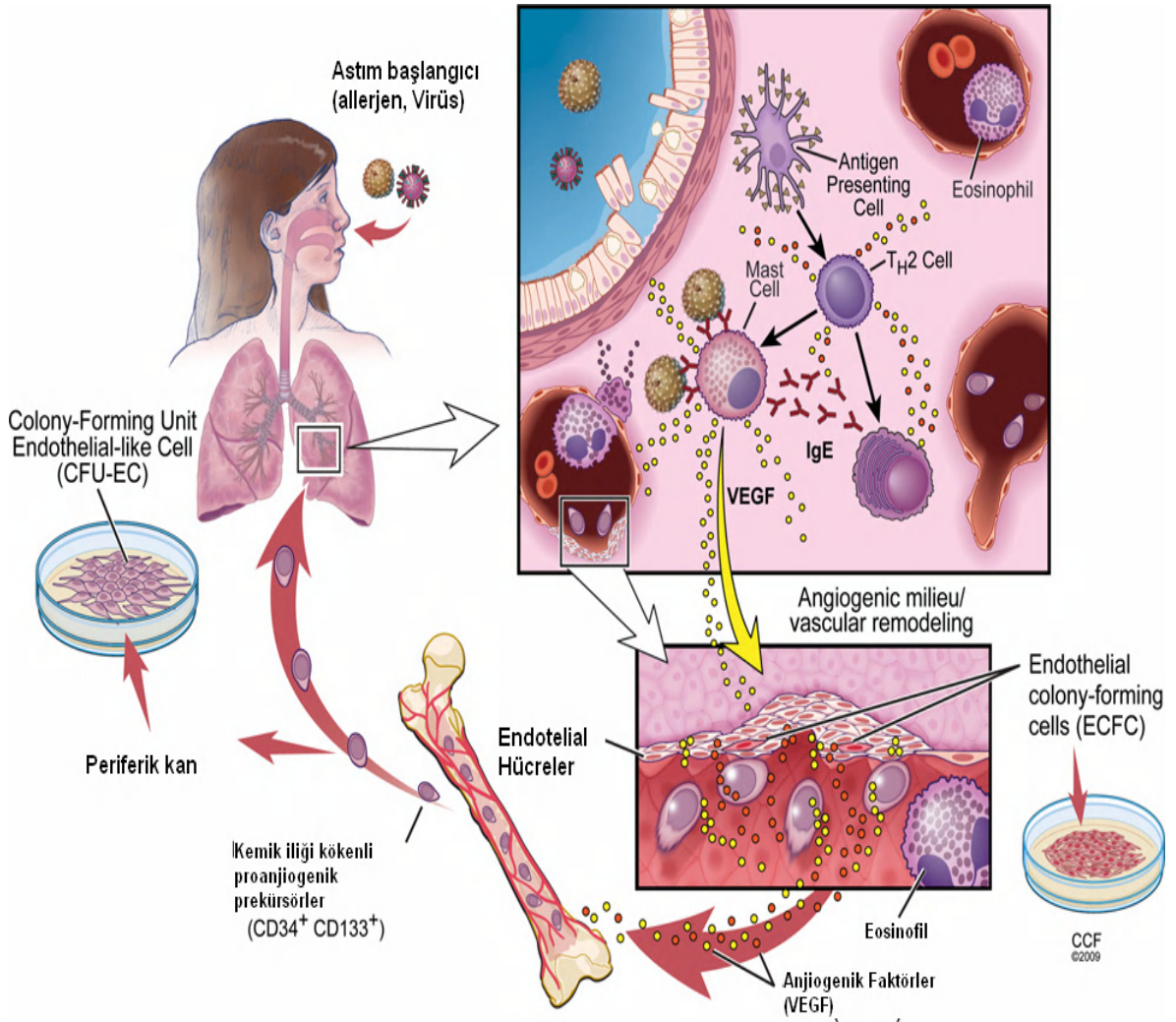
### **II.1.7 Astımda Yeni Damar Oluşumu**

Akciğerlerde iki farklı damar sistemi bulunmaktadır. Birincisi akciğer dokusunun arteriel sistemi olan bronşial damarlardır. Diğeri ise deoksijenize kanı getiren pulmoner vasküler sistemdir. Kan akımının %95 den fazlası pulmoner sistemle olsa da; hem pulmoner dolaşım hem bronşial dolaşım akciğer fonksiyonları için çok önemlidir. Örneğin pulmoner hipertansiyonda küçük pulmoner arterlerde yeniden yapılanmayla sonuçlanmakta, kronik hava yolu inflamatuvar hastalıkları ise bronşial arter remodelizasyonları ile ilgilidir. Pulmoner arter dalları bronş ve bronşiollerle paralel seyrederek, gaz değişimi için alveolü çevreleyen yaygın kapiller ağı ile sonlanır. Bronşial sirkülasyon aortadan dallanır, iki kapiller pleksus oluşturur (subepitelial pleksus ve adventisyel pleksus) her biri hava yolu düz kasları arasında yer almaktadır. Bronşial ven ağı ana pulmoner vena toplanarak sol atriya dökülür (37).

Neovaskülarizasyon veya yeni kan damarı oluşumu üç aşamada gerçekleşir, bunlara vaskülogenezis, anjiogenezis ve arteriogenezis denir. Vaskülogenezisin önemi de novo yeni kan damarı sentezi yapılmasıdır; primitif prekürsörlerin vaskülarizasyon alanına göç etmesi endotel hücrelerinden ayırmakta ve yapısal olarak tam anlamıyla yeni kan damarı oluşmasıdır. Anjiogenezis yeni bir damarın tomurcuklanmasıdır, arteriogenezis kolleteral arterlerin luminal çapının artmasıdır (37).

Yeni çalışmalarda neovaskülarizasyonda vasküler kök ve progenitör hücrelerin bir çok tipi ve fonksiyonu tanımlanmıştır (37). Progenitör hücrelerin alt tiplerinin tanımlanmasında farklı biyolojik yöntemler ve hücre yüzey markırları kullanılmaktadır. Endotelial pregenitör hücre (EPC) kemik iliğinden köken alan ve parakrin etkileriyle post natal yeni kan damarı oluşumuna katılan önemli belirteçlerden birisidir. EPC fizyolojik ve patolojik neovaskülarizasyonla ilişkilidir. EPC'ler CD34, CD133, gibi hematopoietik kök hücre markırları ve VEGFR-2 gibi endotelial hücre antijenleri kullanılarak flow sitometrik yöntemle analiz edilebilir. Kemik iliği kökenli hücrelerin endotel hücresinden farklı olup olmadığı halen tartışmalıdır. İnvitro kültürde EPC'ler CFU-EC (colony-forming units of endothelial-

like cells) veya CFU-hill kolonilerini oluşturur. CFU-EC, T hücre varlığında progenitörlerin çoğalmasıyla heterojenöz koloniler oluşturur. Bu kolonilerin tam hücresel bileşimi bilinmemektedir. İmmunfenotipik yöntemler ile progenitör hücre markırlarından CD34 ve CD133 düşük-orta düzeyde ekspresyonu belirlenmiştir (37). Hücreler asetile düşük dansiteli lipoprotein alımı, lektin bağlanması ve CD31 ekspresyonu, von Willebrand faktör ve vasküler endotelial katerin, gibi endotelial hücreye benzeyen özellikleri için pozitifdir. Ancak; CFU-EC'ler pan-hemapoietik markır CD45'i, myeloid markır CD33, CD11b ve alfa düz kas aktinini eksprese ettikleri için gerçek endoteial hücreler olarak değerlendirilmezler. EPC'lerden kaynaklanan CFU-EC'lerin endotelial doğası üzerine olan tartışmaların aksine yeni tanımlanan bir endotelial progenitör olan endothelial colony-forming cell (ECFC) gerçek bir endotelial hücre olarak değerlendirilir. ECFC'ler çok az bilinmektedir. Büyük olasılıkla damar duvarından türeyen bu hücreler dolaşımda nadir olarak bulunurlar, fakat, kan damarlarının yapımı gerektiği zaman çok sayıda üretilebilmektedirler (şekil2) (37).



**Şekil 2:** Astımda neovaskülarizasyon (37)

Astım kronik inflamatuvar bir hastalıktır. Astımda patolojik hava yolu remodelizasyonu gösterilmiştir. Hava yollarındaki, vasküler remodelizasyonda anjiogenez, vazodilatasyon ve mikrovasküler kaçak astım patogenezinde öne çıkan bulguları oluşturmaktadır. Anjiogenez erişkin astımının erken fazlarında saptanmıştır (37, 38). Astımda bir çok proanjiogenik mediatör salgılanmakta veya düzeyi artmaktadır, bunların arasında en çok VEGF üzerinde araştırmalar yürütülmektedir (37, 39).

### **II.1.8. Astımın Klinik Belirtileri, Bulguları ve Tanısı**

**Semptomlar:** Astım, nefes darlığı, hışıltı, öksürük ve göğüste sıkışma hissi gibi belirtilerle karakterize ataklarla seyreden bir hastalıktır. Bu belirtiler tek tek ya da birlikte bulunabilirler. Bazı durumlarda öksürük tek yakınmadır, bu durum “*öksürükle seyreden astım*” olarak adlandırılır (2, 8).

**Fizik Muayene:** Astım belirtileri değişken olduğundan dolayı muayene bulgusu olmayabilir. Astımlı hastalarda hışıltı duyulabilir, ekspiryumun uzamış olduğu saptanabilir. Hiperinflasyon, taşipne, taşikardi bulunabilir. Ciddi obstrüksiyon varlığında ajitasyon, siyanoz, yardımcı solunum kaslarının kullanımı ve pulsus paradoksus gelişebilir (2, 7).

### **II.1.9. Astımında Tanı Testleri**

**Solunum Fonksiyon Testleri:** Solunum fonksiyon testleri (SFT) ile, havayolları kısıtlılığının derecesi ve geri dönüşlü olup olmadığı ortaya konabilir. “*Spirometre*” adı verilen cihaz ile, zorlu vital kapasite (FVC), 1. saniyedeki zorlu vital kapasite (FEV1) ve zirve ekspirasyon akımı (PEF) ölçümleri, tanı açısından oldukça değerli bilgi verir (2, 8).

**Allerji Testleri:** Deri “*prick*” testleri, allerjinin ortaya konmasında kullanılacak duyarlı, hızlı, basit ve düşük maliyetli testlerdir. Serumda spesifik IgE değerlerinin ölçümünden de tanıda yararlanılabilir (2, 14).

### **II.1.10 Astım Şiddetinin Derecelendirilmesi :**

Astımlı olgularda fenotipler ve çevresel etkenler açısından farklı olguların yanı sıra, inflamasyon düzeyi, semptom ve fonksiyonel parametreleriyle de çok farklı olgular

bulunmaktadır. Tedavilere verilen yanıtlar kişiden kişiye değişebilmekle birlikte, bazı olguların kategorize edilerek sınıflandırılmasının tedavinin standardizasyonu açısından kolaylık sağlayabileceği düşünülmüştür. Bu amaçla çeşitli rehberler bazında sınıflamalar yapılmıştır. Bu derecelendirmelerde, genellikle klinik bulgulara ve akciğer fonksiyon testlerine dayalı sınıflamalar kullanılır. Buna göre, sınıflamanın inflamasyon düzeyi ile paralel olduğu da gösterilmiştir (1, 2). Olgular stabil dönem ve ataktaki astımın şiddetine göre ayrı ayrı sınıflandırılır. Bu konuda ülke bazında rehberler yayınlanmıştır. Ancak, astımda görülen artışa küresel bir çözüm arayışı içinde ve en son yayınlanan kanıta dayalı çalışmaların sonuçları göz önüne alınarak GINA tanı ve tedavi rehberi yayınlanmıştır. Söz konusu GINA 2006 kriterlerine göre stabil astımlı hastalarda şiddete göre sınıflama Tablo 1’te gösterilmiştir.

**Tablo 1:** Astım Şiddetinin Derecelendirilmesi

Astımın Şiddeti	Tedavi öncesi klinik bulgular	Akciğer Fonksiyonları
İntermittan	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Semptomlar haftada birden az</li> <li>• Gece semptomları ayda ikiden az</li> <li>• Alevlenmeler kısa</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PEF veya FEV1 &gt;%80</li> <li>• PEF veya FEV1 değişkenliği &lt;%20</li> </ul>
Hafif persistan	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Semptomlar haftada birden fazla, hergün değil</li> <li>• Gece semptomları ayda ikiden sık</li> <li>• Semptomlar aktivite ve uykuyu etkileyebilir</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PEF veya FEV1 &gt;%80</li> <li>• PEF veya FEV1 değişkenliği %20-30</li> </ul>
Orta Persistan	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Her gün semptomlu</li> <li>• Semptomlar günlük aktiviteyi etkiler</li> <li>• Gece semptomları haftada ikiden sık</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PEF veya FEV1 %60-80</li> <li>• PEF veya FEV1 değişkenliği &gt;%30</li> </ul>
Ağır Persistan	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Her gün kısa etkili B2 agonist ihtiyacı</li> <li>• Alevlenmeler sık</li> <li>• Fiziksel aktivite kısıtlı</li> <li>• Gece semptomları sık</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• PEF veya FEV1 &lt;%60</li> <li>• PEF veya FEV1 değişkenliği &gt;%30</li> </ul>



## II.2. CD4, CD8, CD25, CD45RO, CD95 Markerlarının Klinikteki Kullanımı

Astım patogeneğinde akım sitometri tekniği ile analiz edilen hücre subtiplerinin analizi sırasında başlıca CD (HLA CD = Human Leucocyte Antijen Cell Differentiation, İnsan Lökosit Antijeni Hücre Ayırım Belirteci) markerleri araştırılmaktadır (40). Sıklıkla araştırılan CD34 kök hücre markırıdır ve tüm hematopoetik hücrelerde eksprese edilir. CD45 ise tüm lenfositlerin yüzeyinde bulunmakta iken CD14 lenfositlerde eksprese edilmemektedir.

**CD4** : Basit zincirli 59 kDa ağırlığa sahip, transmembran bir glikoproteindir. Yardımcı T lenfositlerin başlıca belirleyicisidir. CD4+ T lenfositlerin, antijen sunan hücrede bulunan MHC Sınıf II molekülünün nonpolimerik bölgesine bağlanır ve sinyal iletiminde yardımcı molekül olarak rol oynar. Monositlerde de eksprese edilir fakat T lenfositlerinden daha düşük dansitededir. CD4+ T lenfositler B hücrelerinden immunglobulin sentezine yardımcı olurlar. İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü (HIV) gp120 proteini, CD4 molekülüne bağlanır (41).

**CD8** : CD8 antijeni disülfid bağlarıyla bağlı dimer yapısındadır. Periferik kan T lenfositleri CD8 molekülü ya CD8  $\alpha$  zincirinden oluşmuş bir homodimer ya da CD8 $\alpha$  ve CD8 $\beta$  zincirlerinin birlikte oluşturdukları heterodimer yapısındadır. Moleküler ağırlığı CD8 $\alpha$  veya CD8 $\beta$  32-34 kDa'dur. CD8 molekülü hem MHC sınıf I molekülüne tutunmayı sağlamakta hem de sinyal iletimini kolaylaştırmaktadır Sitotoksik T lenfositlerin yüzey belirleyicisidir. NK (doğal öldürücü hücre ) hücrelerde düşük orta düzeyde eksprese olmaktadır (41).

**CD25** : CD25 antijeni ( IL-2R $\alpha$  zinciri, Tac veya p55) basit zincirli membran glikoproteindir. 55 kDa ağırlığındadır. Düşük affiniteli IL-2 reseptörüdür. CD122 (IL -2R $\beta$ , p75) and CD132 (IL-2R $\alpha$ , p64) zincirleri ile nonkovalen birleşerek IL-2R kompleksini oluşturur. Temel hücrenel kaynak aktive T ve B lenfositler ile aktive monosit ve makrofajlardır (41).

**CD45RO** : CD45 (LCA, Leucocyte Common Antigen) lökositlerin ortak antijenidir. CD45RO ise CD45'in 180 kDa ağırlığında bir izoformudur. Alt gruplardan CD45RA antijenle karşılaşmamış lenfositlerde bulunur, 45RO ise CD4+ bellek lenfositlerinin alt grubudur. Monosit ve granülositlerde düşük yoğunlukta eksprese edilir (41).

**CD95** : CD95 (Fas, APO-1) antijeni, 40-50 kDa ağırlığında transmembran glikoproteindir. TNF ailesinin bir üyesidir ve sisteinden zengindir. Bu hücre yüzey molekülü, apoptozise aracılık etmektedir. CD95 antijeni, büyük oranda periferik kan CD4+ lenfositler,

CD8+ lenfositler ve B lenfositlerde eksprese edilir. Fakat NK hücrelerinde, düşük oranda bulunur. Platelet ve eritrositlerde ise yoktur, granülosit ve monositlerdeki ekspresyonu değişkendir. Aktive T hücreleri, B hücreleri, NK hücreleri ve timositler, CD95 düzeyini arttırmaktadır. Bundan başka T, B, NK ve myeloid seri hücrelerinde, güçlü şekilde ekspresyonu mevcuttur. Başka dokularda da ekspresyonu vardır (41).

### **II.3. VEGF Ailesi ve Reseptörleri**

#### **II.3.1. VEGF Ailesi**

VEGF, özellikle endotel hücreleri için özgül etkilere sahip olan multifonksiyonel bir büyüme faktörü ailesidir. Endotel hücrelerinin proliferasyonuna, migrasyonuna ve differensiasyonuna sebep olur (42). VEGF, hem gelişim sırasında, hem de yetişkinde vaskülogenez ve anjiogenez için önemli ve gereklidir. Bu büyüme faktörü, özellikle damar oluşumunda kritik rol oynarken, endotel hücrelerinin yaptığı bir çok fonksiyonda da gerekli olduğu görülmüştür. Bunlar embriyogenez, yara iyileşmesi, tümör büyümesi, miyokardiyal iskemi, oküler neovasküler hastalıklar ve romatoid artrit gibi kronik inflamatuvar hastalıkları da kapsayan fizyolojik ve fizyopatolojik olaylardır (43).

Son yıllarda VEGF üzerine yapılan çalışmalar, bu ailenin PDGF süperailisinin önemli bir üyesi olduklarını ortaya koymuştur (42). Aynı zamanda VEGF ailesinin VEGF-A (Human-VEGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E ve PLGF adı verilen altı üyeden meydana geldiğini gösterilmiştir. VEGF'ün cDNA dizileri salgı aktivitesini düzenleyen hidrofobik ve sekretuar bir baş olan N-terminal dizilerinde şifrelenmiştir (43, 44).

**VEGF-A** geni, kromozom 6p21.3'teki lokalizasyonda kodlanmakta ve aynı zamanda Human-VEGF olarak bilinmektedir. VEGF-A bazı makalelerde sadece VEGF olarak adlandırılmaktadır. VEGF-A'nın şu ana kadar bilinen altı adet izoformu vardır. Bunlar VEGF<sub>121</sub>, VEGF<sub>145</sub>, VEGF<sub>165</sub>, VEGF<sub>183</sub>, VEGF<sub>189</sub> ve VEGF<sub>206</sub> olarak isimlendirilmişlerdir ve isimlerindeki sayılar içerdikleri amino asit sayılarını göstermektedir (42). Bu izoformlardan VEGF<sub>121</sub> hariç, hepsi heparine bağlanmaktadır. VEGF<sub>121</sub>, VEGF<sub>145</sub> ve VEGF<sub>165</sub> salgılandığında kolayca diffüze olur ve erimiş formları sıvılarda saptanabilir. VEGF<sub>189</sub> ve VEGF<sub>206</sub> ise salgılandığı halde hücre aracılı olarak kalır ve varlıkları testlerle kolayca saptanamaz. VEGF<sub>206</sub>, VEGF'ün orijinal karakteristik formu olup, yaklaşık 34-46 kDa ağırlığında homodimerik bir glikoproteindir. VEGF<sub>165</sub>, VEGF<sub>121</sub>'in aksine hücre yüzeyindeki

veya ekstrasellüler matriksteki proteoglikanlara ve heparine bağlanan formdur. VEGF<sub>189</sub> heparin ve heparan sülfat proteoglikanına bağlanmayı tetikler ve artırır (43, 44).

**VEGF-B**, başlangıçta VEGF-A ile %23'ü homolog olan bir sinyal peptidinin bölünmesinden sonra, 186 amino asitli bir protein olarak oluşur. Sonra, ekson-6'da oluşan bir alternatif splicing ile tamamen farklı terminal COOH- grupları içeren 167 amino asitli bir proteine dönüşür. VEGF-B, vasküler endotel büyüme faktörü reseptörü-1 (VEGFR-1)'e bağlanarak monositlerin aktivasyonu ve farklılaşmalarında rol alır (43, 44).

**VEGF-C**, VEGF-benzeri protein olarak da bilinir. VEGF-A ile %16'sı benzeyen 388 amino asitten oluşmuştur. Lenfatik damarların oluşmasında (lenfanjiogenez) rol oynamaktadır. VEGFR-2 ve VEGFR-3'e bağlanarak vasküler ve lenfatik endotelial hücrelerde mitojenik etki yapar. Yapılan bir deneyde, transjenik farenin derisinde VEGF-C'nin fazla salgılanmasının endotel hücre proliferasyonuna ve lenfatik damarlarda genişlemeye neden olduğu, bununla beraber vasküler doku oluşmadığı rapor edilmiştir. VEGF-C'nin Kaposi sarkomunda önemli oranda rol aldığı görülmüştür (43, 44).

**VEGF-D**, 334 amino asitten oluşan ve VEGF-A'ya %31 oranında aynı amino asitler içeren bir proteindir. C-terminal uçlarında zengin sistein domainleri içerir. Bu da VEGFR-2 ve VEGFR-3'e bağlanarak VEGF-C ile benzer işlevler yapar (43, 44).

**VEGF-E**, VEGF-A ile amino asit dizilimi %25 oranında aynı olan bir polipeptittir. Güçlü bir mitojen ve permeabilite artırıcı faktördür. VEGFR-1'e bağlanmayı başaramaz ama VEGFR-2'ye seçici olarak bağlanarak etkisini gösterir (43, 44).

Embriyolojik gelişimin ilk dönemlerinin sonuna doğru VEGF biraz azalırken, organogenez döneminde oldukça yükselir. Yine VEGF yetişkinde akciğer alveolar hücrelerde, böbrek glomerüllerinde, proksimal tübüllerde ve düşük seviyede de olsa karaciğer hepatositleri ve beyinde gösterilmiştir

VEGF mRNA'sının transkripsiyonu; trombosit kaynaklı büyüme faktörü-BB (PDGF-BB), keratinosit büyüme faktörü (FGF-7), epidermal büyüme faktörü (EGF), TNF- $\alpha$ , transforming büyüme faktörü-  $\beta$ 1 (TGF-  $\beta$ 1) ve interlekin-  $\beta$ 1 gibi çeşitli faktörler tarafından başlatılır. Böylece bu maddelerin mitojenik olmadığı, VEGF salgılanmasına yol açarak mitojeniteyi arttırdıkları gösterilmiştir (43, 44).

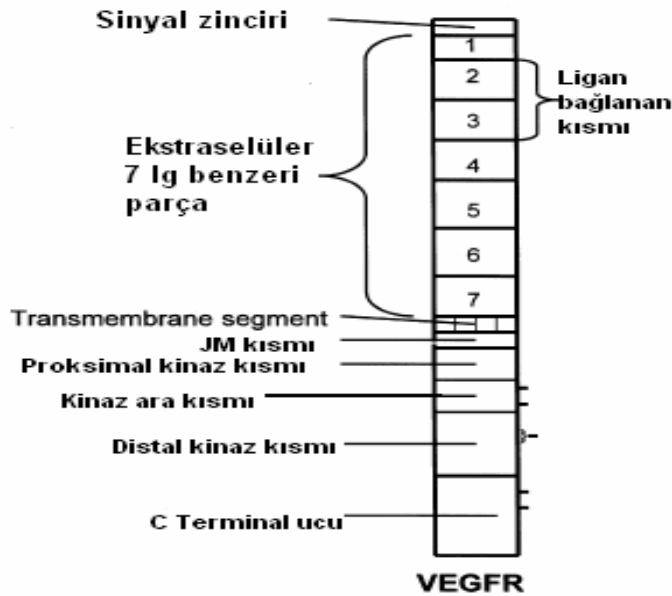
Hipoksi, belki de, VEGF ve reseptörlerinin yapımını indükleyerek anjiogenezi başlatan en etkili stimuluslardan biridir. Buna örnek olarak büyüyen tümörlerin hipoksik merkezleri oluşması ve bunu engellemek için tümör hücrelerinden VEGF ekspresyonu ve yeni damar yapımı gösterilebilir. Yine tıkanmış kalp damarlarına bağlı gelişen hipoksi sonrasında da VEGF ekspresyonu artmaktadır. Hipoksinin VEGF'ü artırma mekanizmasının

sadece bir kısmı çözülebilmıştır. VEGF yapımı hipoksi tarafından tetiklenirken, CO tarafından da inhibe edilmektedir. Hipoksinin yanında azalan pH ve sitokinler ile de VEGF ekspresyonu artmaktadır (43).

### II.3.2. VEGF Reseptörleri

VEGF reseptör ailesi üç adet protein tirozin kinaz aktivitesi olan (VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3) ve iki adet non-protein tirozin kinaz ko-reseptörü (nöropilin-1, nöropilin-2). Bu komponentler anjioblastlardan oluşan yeni kan damarı oluşumuna (vaskülogenez), tomurcuklanma ile yeni bir damarın oluşumuna (anjiogenez) katılırlar (45).

VEGF reseptör proteini, hücre dışı kısmı, transmembraner kısmı, jukstamembraner (JM) kısmı ve hücre içi kısmı mevcuttur. Hücre dışı kısmı yedi adet immunglobuline benzeyen bölümden oluşmaktadır ve tirozin kinaz aktivitesi içermektedir. Transmembraner kısmı ve jukstamembraner kısmı basit yapıdır (44,45). Hücre içi protein kısmı tirozin kinaz aktivitesi içermekte, yaklaşık 70 aminoasit rezidüsünden oluşmakta ve karboksi terminal ucunu içermektedir (şekil 3). Katalizlediği enzim reaksiyonu şöyledir;



Şekil 3 : VEGF Reseptörlerinin yapısı

Growth faktörler hücre dışı kısma bağlandıklarında reseptörde dimerizasyona yol açmakta, protein kinaz aktivasyonu olmakta, otofosforilasyon ve sinyal iletim yolu başlamaktadır. VEGF, VEGFR-1 in ikinci immunglobulin kısmına, VEGFR-2 nin ikinci ve üçüncü immunglobulin kısmına bağlanır. VEGF-C ve VEGF-D ise olasılıkla VEGFR-3 ün ikinci veya ikinci ve üçüncü immunglobulin kısmına bağlanır (44, 45).

**Tablo 2 : VEGF Reseptörleri ligandları ve fonksiyonları**

Reseptör	VEGFR-1	VEGFR-2	VEGFR-3	Neuropilin-1	Neuropilin-2
<b>Ligandları</b>	VEGF VEGF-B PLGF	VEGF VEGF-C VEGF-D VEGF-E VEGF-F	VEGF-C VEGF-D	VEGF PLGF VEGF-B VEGF-C VEGF-D VEGF-E	VEGF VEGF-C VEGF-D
<b>Fonksiyonlar</b>	Vaskülogenez Anjiogenez monosit/ makrofaj motilitesi	Vaskülogenez anjiogenez vasküler permeabilite, endotelial hücre motilitesi	Vasküler ve lenfatik gelişim ve düzenlenme	vasküler maturasyon dallanmanın gelişmesi	lenfanjiogenez

#### II.4. PLGF

Plasental growth faktör VEGF ailesinin tanımlanan ilk üyesi olarak 1991’de Maria Graziella Percsico tarafından bulunmuştur (46). İlk olarak, plasentada bulunduğu için, bu adı almıştır. Daha sonra diğer dokularda da, örneğin; yara iyileşmesinde, tiroid dokusunda ve akciğerde tesbit edilmiştir (47). Sinyal peptitlerinin bölünmesi sırasında önce 131 amino asite sahiptir. Daha sonra, yeni amino asitlerin eklenmesiyle, VEGF-A ile %37 oranında benzeşen ve 152 amino asit içeren, son şekli oluşur (43). PLGF, 50 kDa ağırlığında, glikolize dimerik bir proteindir (46). PLGF’ün bilinen üç reseptörü vardır; VEGFR-1, Neuropilin-1, Neuropilin-2 (47). PLGF mRNA’ sı bu dokularda tesbit edilmiş olsada fonksiyonları halen tam açık değildir (48, 49). PIGF bazı patolojilerde upregule olduğu saptanmasına rağmen fonksiyonu halen net olarak açığa kavuşmamıştır (46). PIGF’ün, VEGFR-1 ve VEGFR-2

arasındaki karşılıklı iletişimi sağlayarak, patolojik anjiogenezi başlattığı düşünülmektedir. Ancak, sonraki çalışmalarda bunu doğrulayan sonuçlar elde edilememiştir. Son zamanlarda, PlGF anti-anjiyenetik bir tedavi ajanı olarak tedavide kullanımı ve anti VEGF protokolleriyle birleştirilerek kullanıldığında, toksisitesinin az olduğu gözlenmiştir (46, 50).

Klinik araştırmalarda PLGF'nin meme kanserlerinde, prekelempside, anfizemde, diabetik retinopati ve tümör damaralanmasının uyarılmasında üzerine araştırmalar mevcuttur (47-49, 51). Literatürde astımda PlGF ilişkisi üzerine yapılan bir araştırma saptanmamıştır .

## **II. 5.High Sensitive -CRP**

C-Reaktif Protein (CRP) karaciğerde salgılanan akut faz reaktanlarındanır. 1930 yılında ilk kez streptococcus pnömoniae'nın hücre duvarındaki C-polisakkarid komponentine bağlanabilme özelliği keşfedilmiş ve CRP olarak isimlendirilmiştir. İnflamasyona sistemik cevap olarak farklı düzeylerde yükselmektedir. Karaciger dışında makrofaj ve düz kas gibi diğer dokulardada sentez edilmektedir (52).

CRP 115 kDa moleköl ağırlığında, benzer beş protein alt ünitesinin her biri yaklaşık 23 kDa ağırlığında, non-kovalent bağlanması ile oluşan bir beta-globülinidir.. Her bir alt ünite 206 aminoasid rezidüsünden oluşur ve aminoasid zincirlerinde N-glikolizasyon alanları bulunmaz. CRP geni 1. kromozom üzerinde bulunmaktadır, yapısı ve Ca<sup>2+</sup> bağlanma özelliği nedeniyle pentaksin olarak isimlendirilen protein grubuna dahil edilmiştir. Mikroorganizma ve normal doku hücreleri duvarlarının membran yapısında bulunan fosfokoline bağlanarak etkisini göstermektedir. Hücre duvarının yapısını bu şekilde bozar ve immünolojik sürecin başlatılmasında görev alır (53).

CRP infeksiyon ve inflamasyon esnasında plazmadaki düzeyi belirgin bir yükseklik gösterdiği için akut faz proteini olarak kabul edilmiştir. Akut cevap, inflamasyon, infeksiyon, doku hasarı ve neoplazm gelişimi sonucu IL-1, IL-6, TNF, Prostaglandin E (PGE) ve interferonları, mediatörleri ile stimüle edilen nonspesifik bir reaksiyondur. CRP, akut inflamasyonun başlangıcından itibaren 24-48 saat içerisinde 1000 kat artış gösterirken, doku yapısının ve fonksiyonlarının tamiri sonrası normal düzeylerine döner. CRP'nin bağlanmasıyla klasik yoldan kompleman sistemi aktive olur, inflamatuvar mediatörler salgılanır, fagositoz reaksiyonları hızlanır ve sonuçta hücre lizisi oluşur (53-56).

Bağışıklık sisteminde CRP'nin anahtar işlevleri: 1- Fagositik aktiviteyi tetikleyen kompleman sisteminin ilk komponenti olan C1'e bağlanabilmesi 2- Zarar görmüş doku hücreleri, bakteri, mantar ve parazitin yapısında bulunan fosfokolini tanıma ve bağlanma

özelliği 3- İnflamatuar sitokinlerin oluşumunu stimüle eden polimorfonükleer lökositlere ve monositlere bağlanabilmesi 4-Fagositoz işleminin için, opsonin karakterinde hareket edebilmesi, bakterileri işaretleme yeteneği, hücre duvarı zarar görmüş hücrelerin belirlenmesi ve bu hücrelerin çekirdek artıklarının tespiti olarak belirlenmiştir (57).

Sağlıklı bireylerde normal sınırlar içinde kabul edilebilen CRP değerlerinin bile aterosklerotik vasküler hastalığın bağımsız bir belirleyicisi olabileceğinin gösterilmiş bunun üzerine de, subklinik inflamasyonu belirlemek için CRP tayininde yüksek duyarlılıklılı yöntemler (high sensitivity CRP, hs-CRP) uygulanmaya başlamıştır. Başlıcaları immünradyometrik, immünnefelometrik ve immünturbidimetrik yöntemler olan yüksek duyarlılıklılı bu yöntemlerin sonuçları karşılaştırılabilir düzeydedir (52, 58).

Astım inflamatuvar bir hastalık olduğu için hs-CRP (High sensitivity CRP) ölçümü akut alevlenmelerin takibinde ve astımın şiddetinin belirlenmesinde kullanılabilir. Astım derecesi arttıkça hs-CRP düzeylerinde kademeli bir artış görölmektedir (59, 60).

### III. GEREÇ VE YÖNTEM

#### III.1. Araç ve Gereçler

Çalışmamızda kullanılan araç ve gereçler; adı marka ve modeli tabloda özetlenmiştir.

**Tablo 3:** Çalışmamızda kullanılan araç ve gereçler

Santrifüj	Hettich Rotina 35 R/Soğutmalı (Germany)
Flow Sitometri cihazı	Beckman-Coulter FC500 (USA)
ELISA Okuyucu	BioRead, Spectra II (Avusturya)
Orbital sheaker	Shaker PSU-2T Plus Biosan
Otomatik Pipetler	Biohit, Proline, İsolab
Derin Dondurucu	Nuaire Ultralow Freezer (85°C)
Cam Pipetler	Precicolor HBG (Germany)
Vorteks	Yellowline (USA)
SFT cihazı	Master Scope

#### III.2 Yöntem

##### III.2.1 Çalışma Grupları

Celal Bayar Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Göğüs Hastalıkları Ana Bilim Dalı Polikliniğine başvuran 30 orta persistan grupta astımlı hasta çalışmamıza hasta grubu olarak dahil edilmiştir. GINA sınıflamasına göre hafif ve ağır evredeki hastalar çalışma dışı bırakılmıştır.



#### Çalışmaya alınma kriterleri:

- Sigara içmeyen bireyler yada sigara içmiş ancak son 10 yıldır sigara içmemiş hastalar
- Tedaviye uyum gösteren hastalar
- GİNA 2006 rehberine göre astım tanısı almış ve orta persistan grupta olan astım hastalar

#### Çalışmada dışlanma kriterleri:

- Astım olup son 4 hafta içerisinde enfeksiyona bağlı atak geçiren hastalar,
- Tüberküloz yada başka bir nedenle pulmoner enfeksiyonu olan hastalar
- Oto immün hastalığı olanlar
- Kanser hastalığı olanlar
- Kalp hastalıkları olanlar
- Astım tedavi uyumsuz olan hastalar
- Son 3 ay içerisinde herhangi bir nedenle oral kortikosteroid kullanan hastalar
- Beta bloker tedavisi alanlar
- Son 1 ay içerisinde başka bir hastalık nedeniyle de olsa hastanede yatmış hastalar
- Gebe hastalar

Anti inflamatuvar tedavi altında hastalar ise antiinflamatuvar tedavinin kesilmesi etik dışı olduğu için tüm çok merkezli araştırmalarda uygulandığı gibi anti inflamatuvar tedavi kesilmeden araştırmaya dahil edildi. Anti inflamatuvar tedavileri kesilmediği için klinik bir sorun çıkmadı. Çalışmaya alınan tüm hastalar anti inflamatuvar tedavileri olağan protokolleri çerçevesinde kullanmaya devam ettiler. Sadece lökotrien antagonistleri tüm çok merkezli çalışmalarda uygulandığı üzere çalışmaya alınmadan 1 ay önce kesildi. Eğer yalnızca lökotrien antagonisti kullanan hastalar varsa bu süre boyunca anti inflamatuvar tedavi uygulandı.

Celal Bayar Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Göğüs Hastalıkları Ana Bilim Dalı Polikliniğine başvurular ile birlikte çalışmaya dışarıdan katılmak isteyen gönüllü 20 sağlıklı birey kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edilmiştir. Kontrol grubu hastaları da sigara kullanmayan, solunumsal ve sistemik hastalığı olmayan sağlıklı gönüllülerden oluşturulmuştur. Kontrol grubu bireylerin yaşı, hasta grubu yaş ortalamasına yakın bireylerden seçilmiştir.

Bu çalışma Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı ve Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı ile birlikte yürütülmüştür. Araştırmamızda orta persistan astım hasta grubunda 30 hasta hasta grubu olarak, sağlıklı gönüllülerden oluşan 20 kişi ise kontrol grubu olarak çalışmaya dahil edilmiştir.

Hastalar, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Göğüs Hastalıkları Polikliniği'ne başvuran kişilerden seçildi. Astım hastaları arasından stabil dönemdekiler çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmamızda dışlanma kriteri olarak enfektif alevlenme atağı geçirenler, sistemik steroid tedavisi alanlar ve başka sistemik hastalığı ya da enfeksiyonu olanlar çalışma dışında bırakılmıştır. Hasta grubu ve kontrol grubundan çalışmanın başında toplam 1 kez kan örneği [1 adet antikoagülan içermeyen tüp, 1 adet etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) içeren tüp] alınmıştır. Hasta grubuna Göğüs Hastalıkları Polikliniğinde solunum fonksiyon testi uygulanmıştır. Antikoagülan içermeyen tüpe alınan kan örneğinden serum VEGF, PLGF, VEGFR-1, VEGFR-2 analizi, EDTA içeren tüpe alınan kan örneğinden ise serum CD4, CD8, CD25, CD45RO, CD95 düzeyleri incelenmiştir.

Tüm katılımcılar, çalışma konusunda bilgilendirilerek kendilerine rızalarının alındığına dair bilgilendirilmiş onay formları imzalatılmıştır. Çalışma yerel etik kurul onayı alındıktan sonra başlatılmıştır.

### **III.2.2 Solunum Fonksiyon Testleri**

Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Göğüs Hastalıkları Polikliniğine bağlı Solunum Fonksiyonu Laboratuvarında solunum fonksiyon testleri; Master Scope marka sipirometri cihazı ve Teknikel firmasının Lab Maneger bilgisayar yazılımı ile hasta gurubuna tek bir uygulayıcı tarafından uygulanmıştır. SFT, burun kapalıyken ve oturur pozisyonda üç kez tekrarlanmıştır. Hastaya tam bir nefes aldırılarak birinci saniye zorlu ekspiratuar volümü ve zirve ekspirasyon akımı, ölçüldü ve en iyi değer kaydedildi.

### **III.2.3. Kan Örneklerinin Alınması**

Hasta grubu ve kontrol grubundan çalışma başlangıcında bir kez olmak üzere 1 adet antikoagülan içermeyen tüpe, 1 adet EDTA içeren tüpe olmak üzere toplam 2 tüp venöz kan örneği alındı. Düz kan örnekleri, 30 dakika içerisinde +4°C'de 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi ve serum örnekleri toplu olarak VEGF, PLGF, VEGFR-1, VEGFR-2 analizi yapılmak

üzere ependorf tüplerine ayrılarak  $-80^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı. Tam kan örneklerinden ise aynı gün içinde en kısa sürede lökosit  $\text{CD4}^+$ ,  $\text{CD8}^+$ ,  $\text{CD25}^+$ ,  $\text{CD45RO}^+$ ,  $\text{CD95}^+$ , T lenfosit alt grupları flow sitometri yöntemi ile çalışıldı.

### III.2.4 Flow Sitometrik analizler

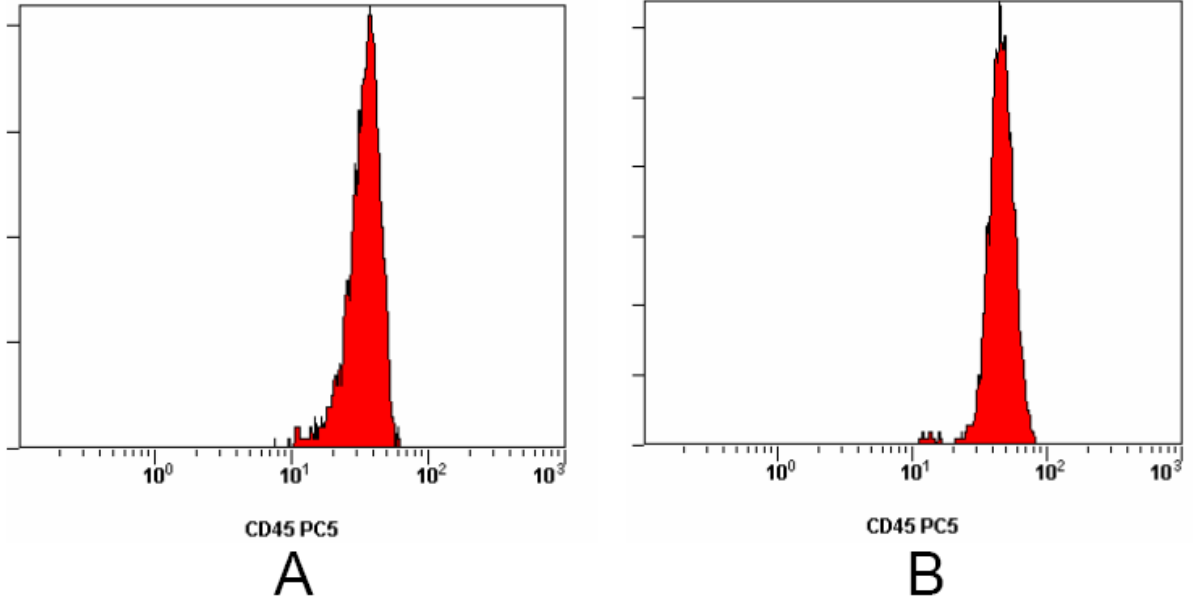
Hasta ve kontrol grubuna ait EDTA'lı tam kan örneklerinde  $\text{CD4}^+$ ,  $\text{CD8}^+$ ,  $\text{CD25}^+$ ,  $\text{CD45RO}^+$ ,  $\text{CD95}^+$ , lenfosit oranına bakmak için IO Test  $\text{CD4-FITC}$  (Immunotech SAS, Beckman Coulter Company, Marsille Cedex, France),  $\text{CD8-PC5}$  (Immunotech SAS, Beckman Coulter Company, Marsille Cedex, France),  $\text{CD25-PE}$  (Immunotech SAS, Beckman Coulter Company, Marsille Cedex, France),  $\text{CD45RO-FITC}$  (Immunotech SAS, Beckman Coulter Company, Marsille Cedex, France),  $\text{CD95-PE}$  (Immunotech SAS, Beckman Coulter Company, Marsille Cedex, France) antikorları kullanıldı.

Hasta ve kontrol grubuna ait EDTA'lı tam kan örneklerinden her bir örnek için 4 adet tüp hazırlandı. Her tüpe 100 mikrolitre EDTA'lı periferik kan konuldu. Birinci tüpe negatif ve pozitif kontrol, ikinci tüpe izotipik kontrol, üçüncü tüpe  $\text{CD8-PC5}$ ,  $\text{CD45RO-FITC}$ ,  $\text{CD95-PE}$ , dördüncü tüpe  $\text{CD4-FITC}$ ,  $\text{CD25-PE}$  antikorlarından 10 mikrolitre konuldu.

Hasta ve kontrol grubuna ait tam kan örneklerindeki eritrositler Immunoprep Reagent System (Beckman Coulter Inc. Fullerton, CA, USA) reaktifleri kullanılarak, Coulter TQ-Prep (Beckman Coulter Inc. Fullerton, CA, USA) cihazında lizis edilerek, örnekler flow sitometri cihazında çalışmak üzere hazırlandı.

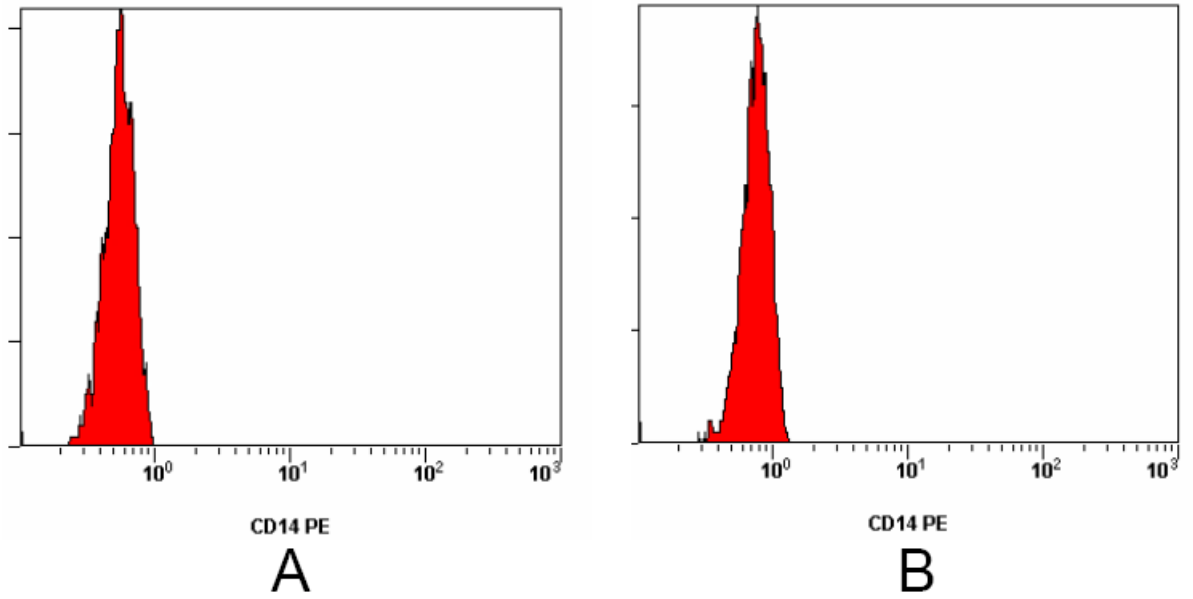
Ön işlem tamamlandıktan sonra antikor ve negatif kontrol eklenmiş her bir örneğe ait dört tüpteki kan örnekleri Cytomics FC 500 (Beckman Coulter Inc. Fullerton, CA, USA) flow sitometri cihazında çalışıldı. CXP Cytometer 2.2 (Beckman Coulter Inc. Fullerton, CA, USA) bilgisayar yazılımı ile elde edilen verilerin analizi yapıldı.

FS-SS grafiğinde lökosit bölgesi seçildikten sonra doğru alanın seçildiği  $\text{CD45-PC5/CD14-PE}$  (Immunotech SAS, Beckman Coulter Company, Marsille Cedex, France) kitleri kullanılarak oluşturulan  $\text{CD45}$  ve  $\text{CD14}$  grafikleri ile konfirme edildi. Şekil:4'de  $\text{CD45}$  ve Şekil:5'de  $\text{CD14}$  histogramlarına birer örnek verilmiştir.



Şekil 4 :Flow sitometri CD45 lenfosit ekspresyon histogramı

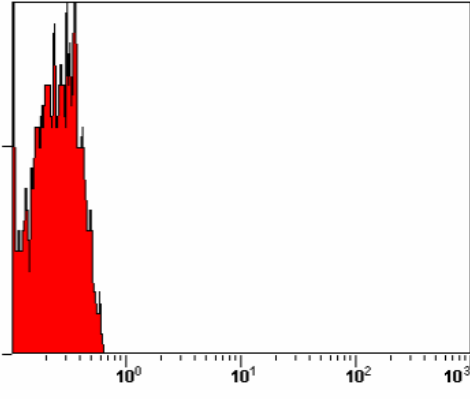
A : hasta grubu B : kontrol grubu



Şekil 5 :Flow sitometri CD14 lenfosit ekspresyon histogramı

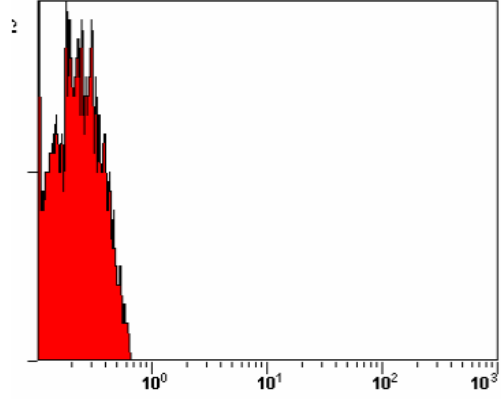
A : hasta grubu B : kontrol grubu

İzotipik kontrol olarak IgG1 FITC/PE/PC5 (Immunotech SAS, Beckman Coulter Company, Marsille Cedex, France) kullanıldı. Şekil: 6' da IgG1 PC5, IgG1 FITC ve IgG1 PE İzotipik kontrol histogramlarına birer örnek verilmiştir.



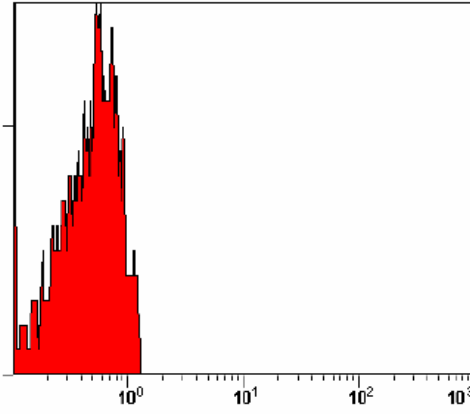
IGG1 PC5

A



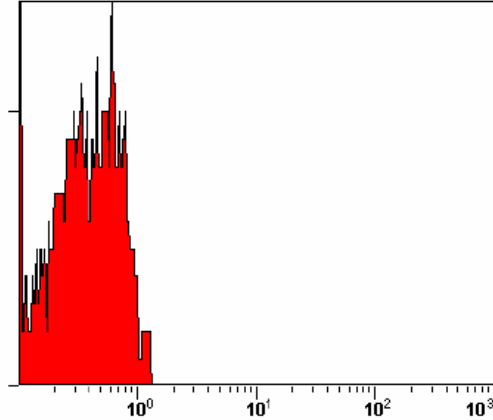
IGG1 PC5

B



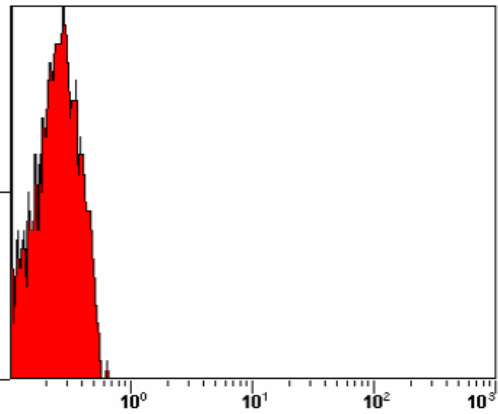
IGG1 FITC

A



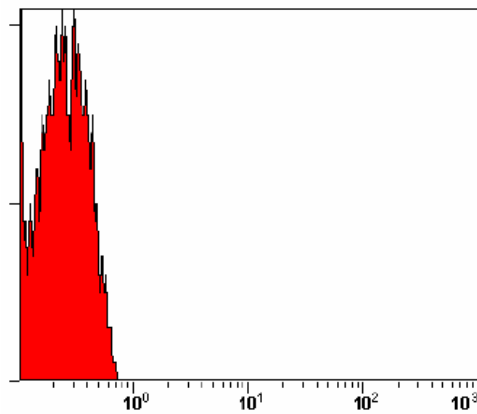
IGG1 FITC

B



IGG1 PE

A



IGG1 PE

B

**Şekil 6 :** Flow sitometri IgG1 PC5, IgG1 FITC ve IgG1 PE İzotipik kontrol histogramları.

A : hasta grubu B : kontrol grubu

### **III.2.5 Biyokimyasal Analizler**

Serum örneklerinden VEGF, PLGF, VEGFR-1 ve VEGFR-2 enzim immün sorbant assay (ELISA) metoduyla çalışılmıştır. Tüm ELISA çalışmalarında Biotek ELx50 (Biotek Instruments, USA) otomatik ELISA yıkayıcı ile yıkama aşamaları yapılmış, absorbanlar Biotek ELx800 (Biotek Instruments, USA) otomatik mikroyokuyucu ile 450 nm’de okutulmuştur. KC junior bilgisayar programı ile örnek absorbanlarından örnek konsantrasyonları hesaplanmıştır.

#### **III.2.5.1 VEGF Tayini**

Serum human VEGF konsantrasyonları daha önce hazırlanarak -80°C’de saklanan serum örneklerinden, ELISA yöntemi ile hazır ticari R&D systems Human VEGF ELISA Kit (R&D systems, Inc. Minneapolis, MN 55413 USA) kullanılarak analiz edildi. Çalışmada düşük (187 pg/ml), orta (518 pg/ml) ve yüksek (1018 pg/ml) olmak üzere üç farklı düzeyde R&D Systems firmasına ait kontrol kullanıldı. Kullandığımız kitin intra assay korelasyon katsayıları (CV) 53,7 pg/ml konsantrasyonda CV: %6,7 iken 235 pg/ml konsantrasyonda CV: %4,5, 910 pg/ml konsantrasyonda CV: %5,1 olarak saptanmıştır. İnter assay korelasyon katsayıları ise 64,5 pg/ml orijinal konsantrasyonda CV: %8,8, 250 pg/ml konsantrasyonda CV : %7,0 ve 1003 pg/ml konsantrasyonda CV: %6,2 olarak saptanmıştır. Kitin minimum ölçüm konsantrasyonu 5 pg/mL dir.

#### **III.2.5.2 PLGF Tayini**

Serum human PLGF konsantrasyonları daha önce hazırlanarak -80°C’de saklanan serum örneklerinden, ELISA yöntemi ile hazır ticari R&D systems Human PLGF ELISA Kit (R&D Systems, Inc. Minneapolis, MN 55413 USA) kullanılarak analiz edildi. Çalışmada düşük (119,5 pg/ml), orta (341,5 pg/ml) ve yüksek (663,5 pg/ml) kontrol olarak üç farklı seviyede orijinal R&D Systems firmasına kontrol kullanıldı. Kullandığımız kitin intra assay korelasyon katsayıları; 40,9 pg/ml konsantrasyonda CV: %5,9 iken 138 pg/ml konsantrasyonda CV: %5,3, 541 pg/ml konsantrasyonda CV: %7,1 olarak saptanmıştır. İnter assay korelasyon katsayıları ise 46,9 pg/ml konsantrasyonda CV: %13,6, 149 pg/ml konsantrasyonda CV : %9,1 ve 555 pg/ml konsantrasyonda CV: %5,9 olarak saptanmıştır. Kitin minimum ölçüm konsantrasyonu 7 pg/mL dir.

### **III.2.5.3 VEGFR-1 Tayini**

Serum human VEGFR-1 konsantrasyonları daha önce hazırlanarak -80°C’de saklanan serum örneklerinden, ELISA yöntemi ile hazır ticari R&D systems Human VEGFR-1 ELISA Kit (R&D systems, Inc. Minneapolis, MN 55413 USA) kullanılarak analiz edildi. Çalışmada düşük 84 pg/ml orta 498,5 pg/ml ve yüksek 952 pg/ml kontrol olarak üç farklı seviyede R&D systems firmasına ait kontrol kullanıldı. Kullandığımız kitin intra assay korelasyon katsayıları; 96,6 pg/ml konsantrasyonda CV: % 2,6 iken 596 pg/ml konsantrasyonda CV: %3,8, 1213 pg/ml konsantrasyonda CV: %3,2 olarak saptanmıştır. İnter assay korelasyon katsayıları ise 112 pg/ml konsantrasyonda CV: %9,8, 645 pg/ml konsantrasyonda CV: %7,0 ve 1279 pg/ml konsantrasyonda CV: %5,5 olarak saptanmıştır. Kitin minimum ölçüm konsantrasyonu 3,5 pg/mL dir.

### **III.2.5.4 VEGFR-2 Tayini**

Serum human VEGFR-2 konsantrasyonları daha önce hazırlanarak -80°C’de saklanan serum örneklerinden, ELISA yöntemi ile hazır ticari R&D systems Human VEGFR-2 ELISA Kit (R&D systems, Inc. Minneapolis, MN 55413 USA) kullanılarak analiz edildi. Çalışmada düşük (295 pg/ml), orta (1548 pg/ml) ve yüksek (2878 pg/ml) seviyede orijinal R&D Systems firmasına ait üç farklı kontrol kullanıldı. Kullandığımız kitin intra assay korelasyon katsayıları; 465 pg/ml konsantrasyonda CV: %4,2 iken 1269 pg/ml konsantrasyonda CV: %3,6, 2995 pg/ml konsantrasyonda CV: %2,9 olarak saptanmıştır. İnter assay korelasyon katsayıları ise 455 pg/ml konsantrasyonda CV: %7,0, 1233 pg/ml konsantrasyonda CV : %6,9 ve 2962 pg/ml konsantrasyonda CV: %5,7 olarak saptanmıştır. Kitin minimum ölçüm konsantrasyonu 4,6 pg/mL dir.

### **III.2.6 Hs-CRP Analizi**

Serum hs-CRP konsantrasyonları daha önce hazırlanarak -80°C’de saklanan serum örneklerinden, immunassay yöntemi ile hazır ticari kit” (İmmulite 2000, DPC, Los Angeles USA) kullanılarak otoanalizörde (İmmulite 2000 Quantitative İmmunassay Analyzer, DPC, Los Angeles USA) analiz edildi. Kullandığımız kitin intra assay korelasyon katsayıları; 0,23 mg/L konsantrasyonda CV: %8,7 iken 3,2 mg/L konsantrasyonda CV: %2,8, 12,3 mg/L konsantrasyonda CV: %2,8 olarak saptanmıştır. İnter assay korelasyon katsayıları ise 0,23

mg/L konsantrasyonda CV: %8,7, 3,2 mg/L konsantrasyonda CV: %3,1 ve 12,3 mg/L konsantrasyonda CV: %3,3 olarak saptanmıştır. Kitin minimum ölçüm konsantrasyonu 0,1 mg/L dir.

### **III.3 İstatistiksel Analiz**

Çalışmanın istatistiksel analizinde SPSS for Windows 11.0 paket programı kullanıldı. Astım ve kontrol grubunun sayısal verileri ortalama  $\pm$  standart sapma olarak tanımlanmış ve grup ortalamaları Student's t testi ile karşılaştırılmıştır. Astım ve kontrol gruplarında sayısal değişkenlerin normal dağılım gösterdiği Kolmogorov Smirnov testi ile saptanmıştır. Hastalık süresine göre 2 grup karşılaştırmasında Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Sayısal değişkenler arasındaki ilişkiler Spearman korelasyon katsayısı ve testi kullanılarak değerlendirilmiştir. P değeri  $< 0.05$  olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



#### IV. BULGULAR

Çalışmaya aldığımız olguların, çalışma başlangıcındaki demografik bilgileri ve yapılan solunum fonksiyon testi sonucu elde edilen spirometrik değerleri, Tablo 4’de verilmiştir. Hasta grubunda, hastaların yaş aralığı 26-60 yaş, kontrol grubunda yaş aralığı 31-58 yaş, olarak saptanmıştır. Astım ve kontrol gruplarının yaş ortalamaları arasında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Astım hastalarının hastalık süreleri ortalama  $7,9 \pm 7,01$  yıl olarak tesbit edilmiştir.

**Tablo 4:** Olguların bazal demografik ve spirometrik bulguları.

	Hasta Grubu (n=30)	Kontrol grubu (n=20)	p
Yaş (yıl)	44,87 ± 10,05	47,30 ± 7,90	0,367
Cinsiyet (K/E)	30/0	20/0	
FEV <sub>1</sub> (%)	79,13 ± 20,345	-	-
PEF (%)	66,80 ± 16,861	-	-
Kaç yıldır Astım Hastası	7,91 ± 7,01	-	-

\*Değerler mean ± Standard deviasyon (SD) olarak verilmiştir.

Hasta grubunda 24, kontrol grubunda 16 kişinin serum PLGF düzeyleri ölçülebilir sınırlar içerisinde saptanmıştır. Diğer olguların düzeyleri kitin analiz sensitivitesinin (7 pg/ml) altında kaldığı için < 7 pg/ml olarak verilmiştir.. Çalışmaya katılan hasta ve kontrol grubunun VEGF, PLGF, VEGFR-1 ve VEGFR-2 düzeyleri arasında, istatistiksel olarak anlamlı fark

saptanmıştır. Hasta grubunda VEGF, PLGF, VEGFR-1 ve VEGFR-2 düzeyleri kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (Tablo 5).

Çalışmaya katılan, hasta ve kontrol grubu hs-CRP düzeyleri arasında, istatistiksel olarak, anlamlı fark bulunmamıştır.

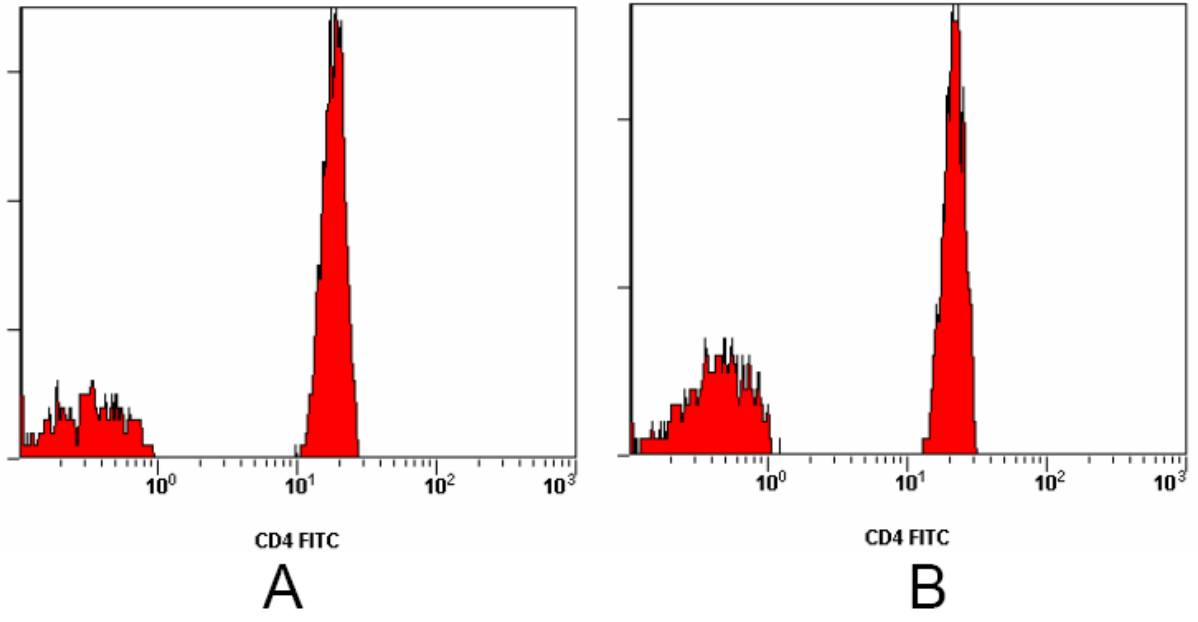
Çalışmamızda elde ettiğimiz VEGF, PLGF, VEGFR-1, VEGFR-2, hs-CRP düzeyleri ve bunların gruplara göre dağılım verileri Tablo 5'te gösterilmiştir.

**Tablo 5:** Olguların serum PLGF, VEGF, VEGFR-1, VEGFR-2 ve hs-CRP değerleri

	Hasta Grubu (n=30)	Kontrol grubu (n=20)	p
PLGF (pg/ml)	11,95 ± 3,84	9,29 ± 1,29	0,004
VEGF (pg/ml)	310,50 ± 167,50	196,85 ± 70,42	0,002
VEGFR-1 (pg/ml)	110,69 ± 27,07	91,70 ± 19,27	0,006
VEGFR-2 (pg/ml)	10191,20 ± 1664,62	8617,24 ± 1411,55	0,001
hs-CRP (mg/L)	4,27 ± 5,58	2,88 ± 2,20	0,227

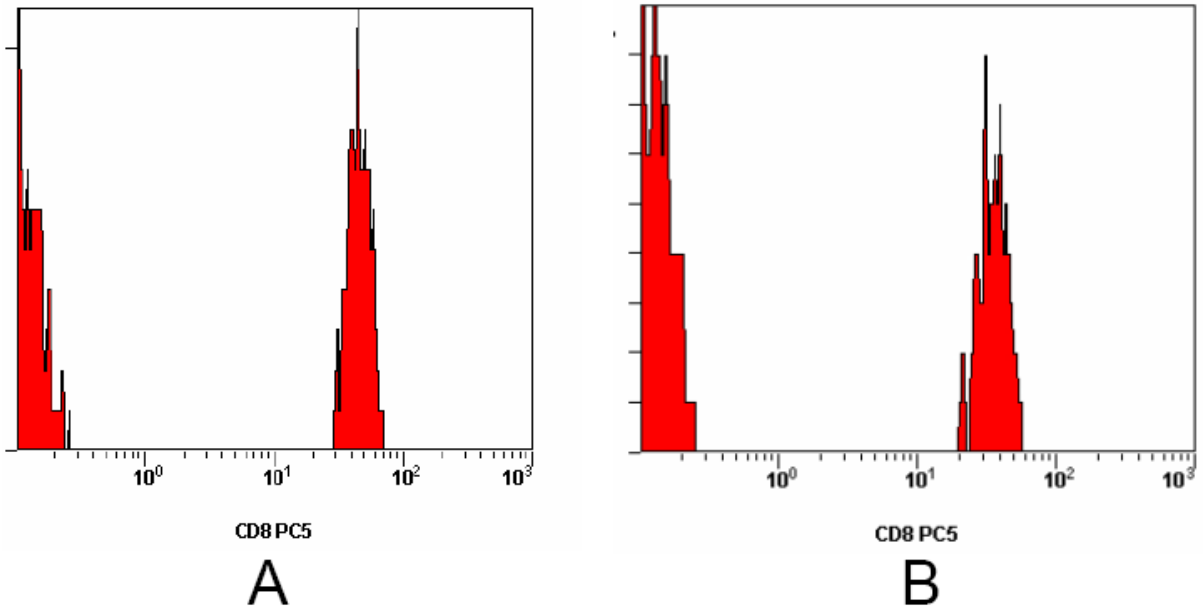
\*Değerler mean ± Standard deviasyon (SD) olarak verilmiştir.

Çalışmaya katılan hasta ve kontrol grubunun flow sitometrik analizinde CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, CD45RO<sup>+</sup> CD95<sup>+</sup>, testlerine ait histogramlardan hasta ve kontrol grubuna ait birer örnek sırasıyla Şekil 7, Şekil 8, Şekil 9, Şekil 10, Şekil 11'de ve bir hastaya ve bir kontrole ait dot plot grafik örnekleri Şekil 12 ve Şekil 13'de gösterilmiştir.



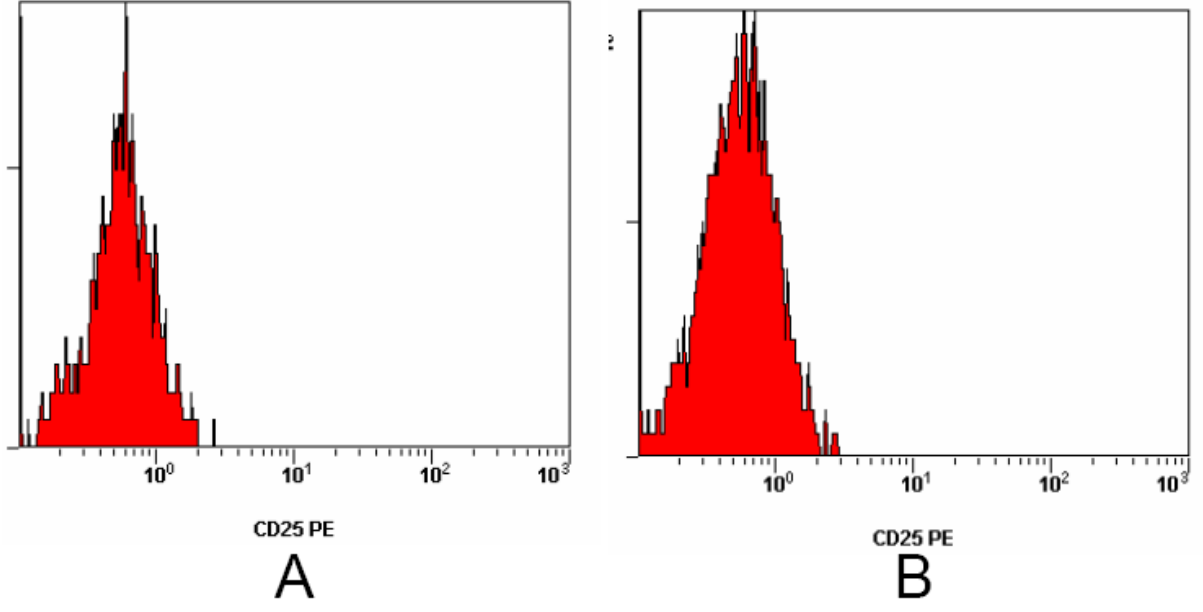
Şekil 7 : Flow sitometri CD4 lenfosit ekspresyon histogramı

A : hasta grubu B : kontrol grubu



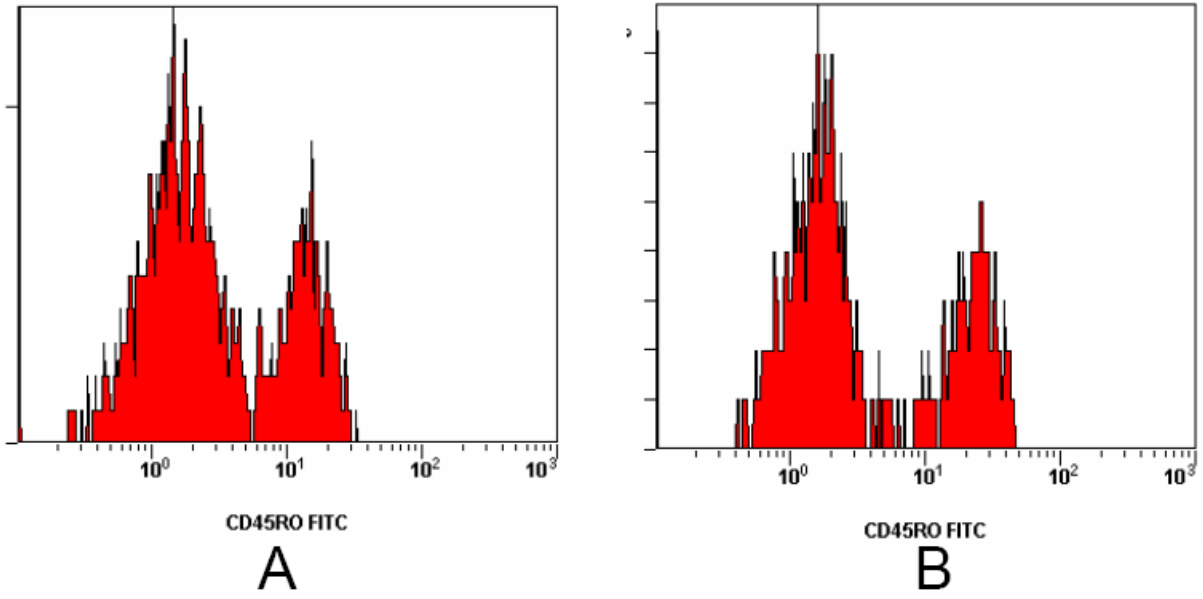
Şekil 8 : Flow sitometri CD8 lenfosit ekspresyon histogramı

A : hasta grubu B : kontrol grubu



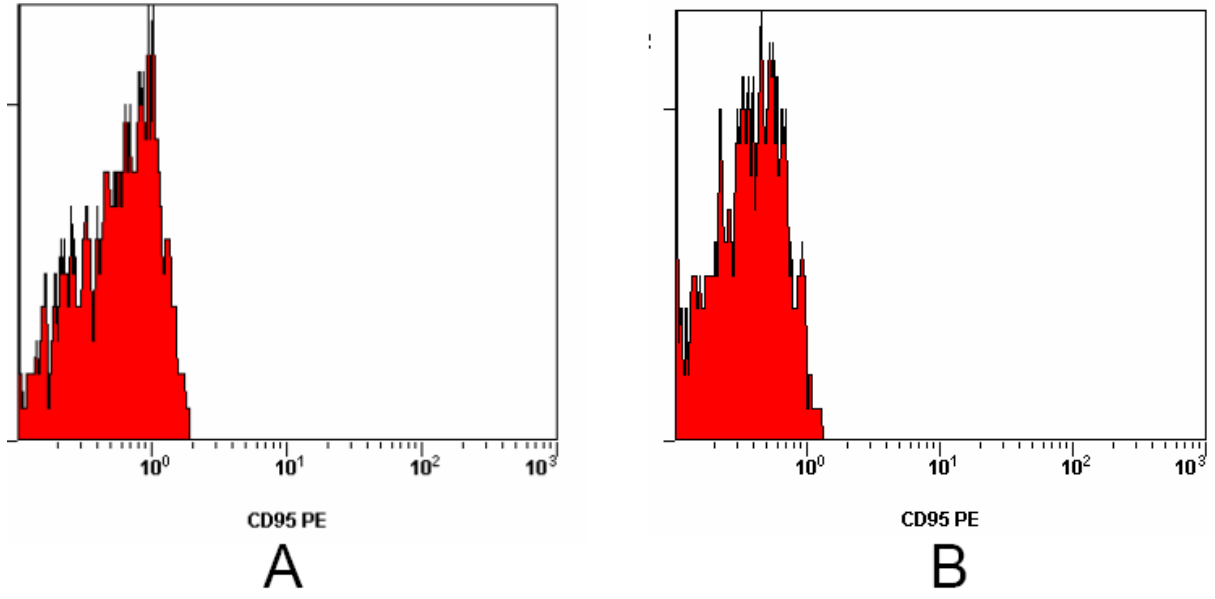
**Şekil 9 :** Flow sitometri CD25 lenfosit ekspresyon histogramı

A : hasta grubu B : kontrol grubu



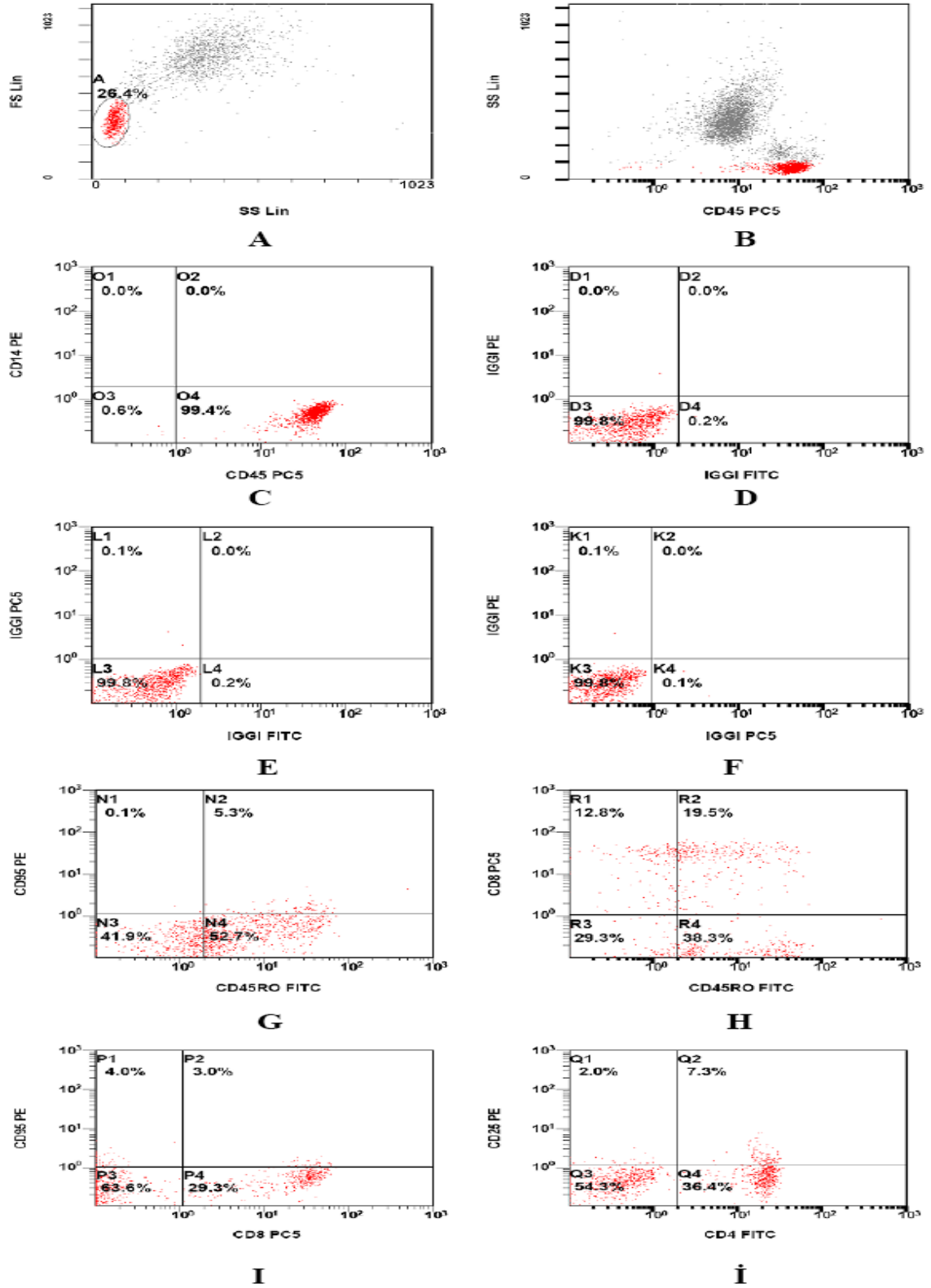
**Şekil 10 :** Flow sitometri CD45RO lenfosit ekspresyon histogramı

A : hasta grubu B : kontrol grubu

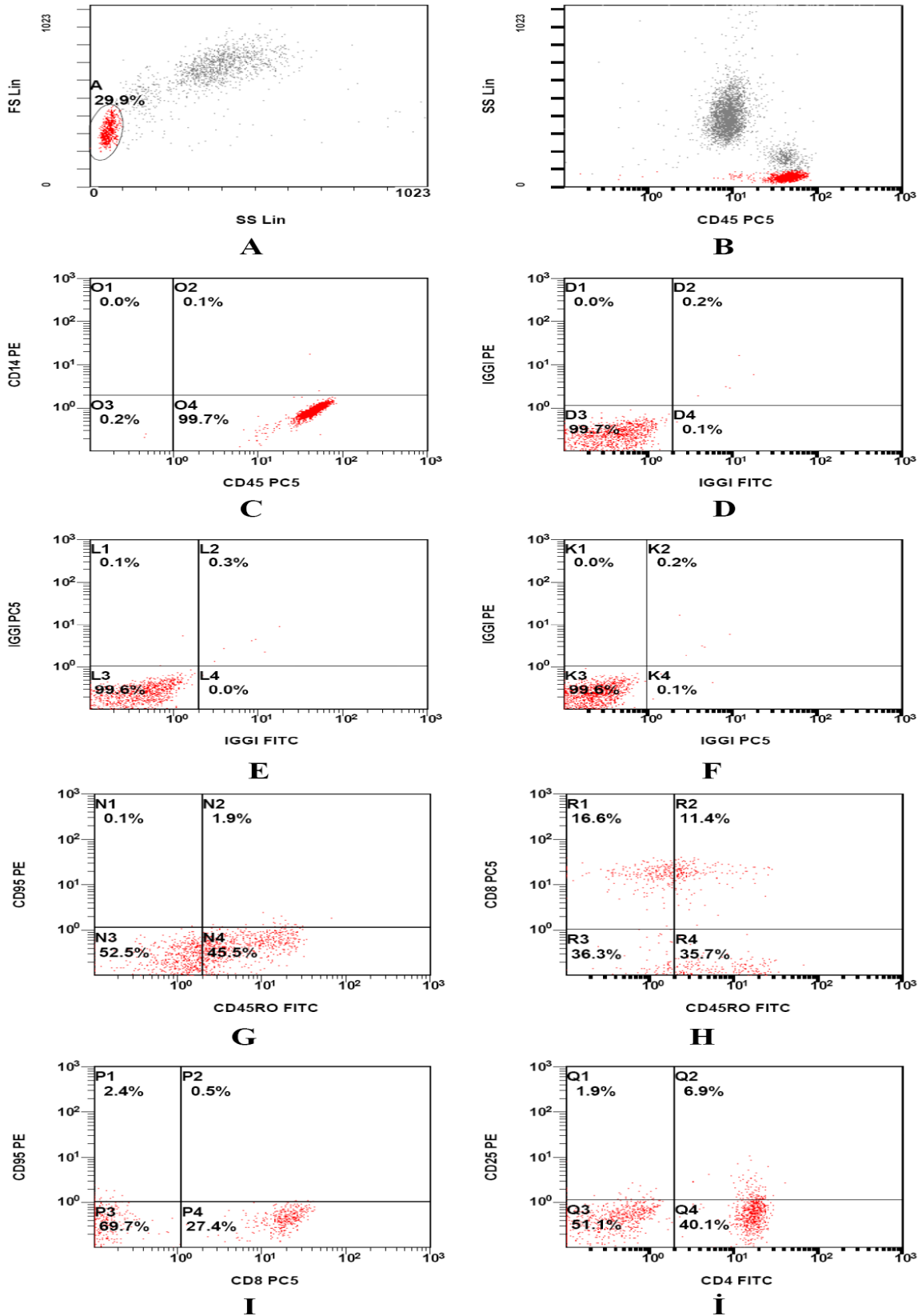


**Şekil 11** : Flow sitometri CD95 lenfosit ekspresyon histogramı

A : hasta grubu B : kontrol grubu



**Şekil 12 :** Hasta örneğinde flow sitometri analiz dot plot grafikleri. **A:** FS-SS grafiği, **B:** SS-CD45 grafiği, **C:** CD14-CD45 grafiği, **D-E-F:** İzotipik kontrol grafiği, **G:** CD95-CD45RO grafiği, **H:** CD8-CD45RO grafiği, **I:** CD95-CD8 grafiği, **J:** CD25-CD4 grafiği.



**Şekil 13 :** Kontrol örneğinde flow sitometri analiz dot plot grafikleri. **A:** FS-SS grafiği, **B:** SS-CD45 grafiği, **C:** CD14-CD45 grafiği, **D-E-F:** İzotipik kontrol grafiği, **G:** CD95-CD45RO grafiği, **H:** CD8-CD45RO grafiği, **I:** CD95-CD8 grafiği, **İ:** CD25-CD4 grafiği.

Hasta ve kontrol grubu arasında CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, CD45RO<sup>+</sup> ve CD95<sup>+</sup> parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır veriler Tablo. 6'da sunulmuştur.

**Tablo 6:** Olguların CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, CD45RO<sup>+</sup> ve CD95<sup>+</sup> sonuçları.

	Hasta Grubu (n=30)	Kontrol grubu (n=20)	p
CD4 <sup>+</sup>	42,19 ± 13,76	45,32 ± 11,18	0,401
CD8 <sup>+</sup>	24,13 ± 7,81	27,00 ± 6,64	0,184
CD25 <sup>+</sup>	14,24 ± 6,46	12,41 ± 3,10	0,186
CD45RO <sup>+</sup>	52,44 ± 13,12	57,08 ± 7,99	0,127
CD95 <sup>+</sup>	6,45 ± 4,54	5,53 ± 3,40	0,446

\*Değerler mean ± Standard deviasyon (SD) olarak verilmiştir.

Hasta ve kontrol grubu arasında CD95<sup>+</sup>45RO<sup>+</sup> verileri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak sınırda anlamlı bir fark saptanmıştır diğer parametrelerde gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. (Tablo 7)



**Tablo 7:** Hasta ve kontrol gruplarında CD95<sup>+</sup>45RO<sup>-</sup>, CD95<sup>+</sup>45RO<sup>+</sup>, CD95<sup>-</sup>45RO<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>45RO<sup>-</sup>, CD8<sup>+</sup>45RO<sup>+</sup>, CD8<sup>-</sup>45RO<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>, CD95<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, CD95<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>CD4<sup>-</sup>, CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, CD25<sup>-</sup>CD4<sup>+</sup> flow sitometrik analiz sonuçları.

	Hasta Grubu (n=30)	Kontrol grubu (n=20)	p
CD95 <sup>+</sup> 45RO <sup>-</sup>	0,33 ± 0,37	0,26 ± 0,31	0,491
CD95 <sup>+</sup> 45RO <sup>+</sup>	5,93 ± 3,86	5,33 ± 2,97	0,563
CD95 <sup>-</sup> 45RO <sup>+</sup>	45,37 ± 11,70	51,31 ± 8,88	0,06
CD8 <sup>+</sup> 45RO <sup>-</sup>	10,71 ± 4,23	11,48 ± 3,59	0,507
CD8 <sup>+</sup> 45RO <sup>+</sup>	13,41 ± 5,29	15,49 ± 4,58	0,158
CD8 <sup>-</sup> 45RO <sup>+</sup>	40,16± 10,00	42,01 ± 6,46	0,468
CD95 <sup>+</sup> CD8 <sup>-</sup>	4,31 ± 3,10	3,79 ± 2,96	0,552
CD95 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	2,31 ± 2,31	1,67 ± 1,24	0,259
CD95 <sup>-</sup> CD8 <sup>+</sup>	21,82 ± 7,63	25,35 ± 6,69	0,100
CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>-</sup>	3,06 ± 2,11	2,30 ± 0,75	0,080
CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	11,18 ± 4,73	10,10 ± 2,69	0,312
CD25 <sup>-</sup> CD4 <sup>+</sup>	31,00 ± 11,26	35,21 ± 9,42	0,174

\*Değerler mean ± Standard deviasyon (SD) olarak verilmiştir.

Hasta grubundaki olgular hastalık süresine göre; 5 yıldan az ve 5 yıldan çok ve 10 yıldan az ve 10 yıldan çok olmak üzere iki farklı şekilde alt gruba ayrılmıştır. Hastalık süresine göre 2 alt grup karşılaştırmasında Mann Whitney U testi kullanılmıştır.

Hastalık süresi 5 yıldan az ve 5 yıldan fazla olarak incelendiğinde; hastalık süresi 5 yıldan az 14 hasta, hastalık süresi 5 yıldan çok olan 16 hasta gruplarında yer almaktaydı. Bu hastalardan, astım süresi<5 yıl olan 12 hasta ve astım süresi>5 yıl olan 12 hastanın serum PLGF düzeyleri ölçülebilir aralıkta saptanmıştır. FEV1 değerleri astım süresi>5 yıl olan

olgularda astım süresi <5 yıl olan gruba oranla istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur. Olguların yaş ve spirometrik verileri Tablo:8’de gösterilmiştir.

**Tablo 8:** Hasta grubu astım süresi 5 yıldan az ve 5 yıldan çok olmak üzere alt gruplandığında yaş ve spirometrik veriler.

	Astım Süresi <5 Yıl (n=14)	Astım Süresi>5 Yıl (n=16)	p
Yaş	43,64 ± 10,44	45,94 ± 9,91	0,647
FEV1	90,93 ± 13,08	68,81 ± 20,21	0,002
PEF	72,07 ± 20,14	62,19 ± 12,22	0,151

\*Değerler mean ± Standard deviasyon (SD) olarak verilmiştir.

Astım süresi, <5 yıl veya >5 yıl olan alt gruplarda, iki altgrup arasında VEGF, PLGF, VEGFR-1, VEGFR-2 ve hs-CRP düzeyleri kıyaslandığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu değerlere ait veriler Tablo:9’da gösterilmektedir.

**Tablo 9:** Hasta grubu astım süresi, <5 yıl ve >5 yıl olarak alt gruplandığında, serum PLGF, VEGF, VEGFR-1, VEGFR-2 ve hs-CRP düzeyleri.

	Astım Süresi<5 Yıl (n=14)	Astım Süresi>5 Yıl (n=16)	p
PLGF (pg/ml)	12,15 ± 4,09	11,74 ± 3,74	0,795
VEGF (pg/ml)	257,90 ± 115,63	356,53 ± 194,46	0,146
VEGFR-1 (pg/ml)	109,98 ± 28,58	111,31 ± 26,61	0,901
VEGFR-2 (pg/ml)	9919,37 ± 1681,44	10429,05 ± 1666,61	0,406
hs-CRP (mg/L)	3,72 ± 4,76	4,75 ± 6,33	0,371

\*Değerler mean ± Standard deviasyon (SD) olarak verilmiştir.

Astım süresi <5 yıl ve >5 yıl olan iki grup arasında CD4<sup>+</sup> düzeyleri istatistiksel olarak birbirinden farklı bulundu. Astım süresi ile birlikte CD4<sup>+</sup> düzeylerinin arttığı gözlenmiştir. CD8<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, CD45RO<sup>+</sup> ve CD95<sup>+</sup> testlerinde, iki grup arasında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Söz konusu veriler Tablo.10'da sunulmuştur.

**Tablo 10:** Hasta grubunun astım süresi <5 yıl ve >5 yıl olarak alt gruplandığında CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, CD45RO<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup> verileri.

	Astım Süresi <5 Yıl (n=14)	Astım Süresi >5 Yıl (n=16)	p
CD4 <sup>+</sup>	36,33 ± 15,36	47,31 ± 10,08	0,011
CD8 <sup>+</sup>	23,91 ± 7,71	24,33 ± 8,15	0,662
CD25 <sup>+</sup>	12,75 ± 7,00	15,55 ± 5,85	0,105
CD45RO <sup>+</sup>	49,56 ± 13,15	54,96 ± 12,98	0,124
CD95 <sup>+</sup>	5,72 ± 3,90	7,08 ± 5,08	0,561

\*Değerler mean ± Standard deviasyon (SD) olarak verilmiştir.

Astım süresi <5 yıl az ve >5 yıl olan iki grup arasında CD25<sup>-</sup>CD4<sup>+</sup> lenfosit düzeyleri, istatistiksel olarak birbirinden farklı bulundu. Astım süresi 5 yıldan uzun olan alt grupta CD25<sup>-</sup>CD4<sup>+</sup> düzeyleri anlamlı yüksek (p=0,051) saptanmıştır. Diğer testlerde, iki grup arasında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Söz konusu veriler Tablo.11'de gösterilmektedir.

**Tablo 11:** Hasta grubunun astım süresi <5 yıl ve >5 yıl olarak alt gruplandırıldığında CD95<sup>+</sup>45RO<sup>-</sup>, CD95<sup>+</sup>45RO<sup>+</sup>, CD95<sup>-</sup>45RO<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>45RO<sup>-</sup>, CD8<sup>+</sup>45RO<sup>+</sup>, CD8<sup>-</sup>45RO<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>, CD95<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, CD95<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>CD4<sup>-</sup>, CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, CD25<sup>-</sup>CD4<sup>+</sup> flow sitometrik analiz sonuçları.

	Astım Süresi<5 Yıl (n=14)	Astım Süresi> 5 Yıl (n=16)	p
CD95 <sup>+</sup> 45RO <sup>-</sup>	0,37 ± 0,33	0,31 ± 0,41	0,223
CD95 <sup>+</sup> 45RO <sup>+</sup>	5,57 ± 3,67	6,24 ± 4,12	0,575
CD95 <sup>-</sup> 45RO <sup>+</sup>	43,15 ± 11,19	47,31 ± 12,15	0,212
CD8 <sup>+</sup> 45RO <sup>-</sup>	10,53 ± 3,16	10,86 ± 5,09	0,884
CD8 <sup>+</sup> 45RO <sup>+</sup>	13,38 ± 6,25	13,44 ± 4,50	0,662
CD8 <sup>-</sup> 45RO <sup>+</sup>	37,00 ± 9,81	42,91 ± 9,63	0,074
CD95 <sup>+</sup> CD8 <sup>-</sup>	3,45 ± 2,21	5,07 ± 3,61	0,270
CD95 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	2,04 ± 1,95	2,55 ± 2,62	0,603
CD95 <sup>-</sup> CD8 <sup>+</sup>	21,85 ± 7,48	21,79 ± 7,99	0,803
CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>-</sup>	2,9643 ± 2,61493	3,15 ± 1,64154	0,492
CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	9,7857 ± 4,81725	12,4063 ± 4,45398	0,07
CD25 <sup>-</sup> CD4 <sup>+</sup>	26,55 ± 12,10021	34,9063 ± 9,14873	0,051

\*Değerler mean ± Standard deviasyon (SD) olarak verilmiştir.

Hasta grubundaki olgular astım süresi <10 yıl ve >10 yıl olmak üzere yeni alt gruplar oluşturulduğunda; astım süresi <10 yıl olan 19 hasta ve astım süresi >10 yıl olan 11 hasta gruplarda yer almıştır. Serum PLGF düzeyleri, astım süresi <10 yıl 15 hastada, astım süresi >10 yıl olan 9 hastada ölçülebilir aralıkta saptanmıştır.

Astım süresi>10 yıl olan altgruba ait FEV1 değerleri, astım süresi<10 yıl olan grubun FEV1 değerlerinden, istatistiksel olarak anlamlı düşük ( $p=0,002$ ) bulunmuştur. Bu değerlere ait veriler Tablo:12’de gösterilmektedir.

**Tablo 12:** Hasta grubunun astım süresi 10 yıldan az ve 10 yıldan çok olarak alt gruplamasında yaş ve spirometrik bulgular.

	Astım Süresi<10 Yıl (n=19)	Astım Süresi> 10 Yıl (n=11)	p
Yaş	43,21 ± 9,94	47,73 ± 10,06	0,311
FEV1	87,68 ± 15,19	64,36 ± 20,14	0,002
PEF	69,37 ± 18,46	62,36 ± 13,28	0,366

\*Değerler mean ± Standard deviasyon (SD) olarak verilmiştir.

Astım süresi 10 yıldan az ve 10 yıldan fazla olan iki alt grup arasında serum VEGF, PLGF, VEGFR-1, VEGFR-2 ve hs-CRP konsantrasyonları istatistiksel olarak birbirinden farklı değildi. Bu değerlere ait veriler Tablo.13’de gösterilmektedir.

**Tablo 13:** Hasta grubunun astım süresi<10 yıl ve >10 yıl olmak üzere alt gruplamasında serum PLGF, VEGF, VEGFR-1, VEGFR-2 ve hs-CRP konsantrasyonları.

	Astım Süresi<10 Yıl (n=19)	Astım Süresi>10 Yıl (n=11)	p
PLGF (pg/ml)	12,09 ± 3,99	11,71 ± 3,80	0,834
VEGF (pg/ml)	268,82 ± 136,38	382,50 ± 197,18	0,107
VEGFR-1 (pg/ml)	109,92 ± 26,96	112,03 ± 28,53	0,914
VEGFR-2 (pg/ml)	10211,93 ± 1839,14	10155,40 ± 1394,71	0,78
hs-CRP (mg/L)	3,58 ± 4,27	5,47 ± 7,42	0,438

\*Değerler mean ± Standard deviasyon (SD) olarak verilmiştir.

Astım süresi <10 yıl ve >10 yıl olan iki grup arasında CD4<sup>+</sup> ve CD25<sup>+</sup> lenfosit düzeyleri istatistiksel olarak birbirinden farklı bulundu. Hastalık süresi ile birlikte, CD4<sup>+</sup> ve CD25<sup>+</sup> lenfosit düzeyleri artmaktadır. CD8<sup>+</sup>, CD45RO<sup>+</sup> ve CD95<sup>+</sup> testlerinde, iki grup arasında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. Bu değerlere ait veriler tablo:14'de gösterilmektedir.

**Tablo 14:** Hasta grubu astım süresi <10 yıl ve >10 yıl olan alt gruplarında CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, CD45RO<sup>+</sup> ve CD95<sup>+</sup> verileri.

	Astım Süresi <10 Yıl (n=19)	Astım Süresi >10 Yıl (n=11)	p
CD4 <sup>+</sup>	38,25 ± 15,35	48,98 ± 6,69	0,028
CD8 <sup>+</sup>	23,13 ± 8,50	25,85 ± 6,47	0,576
CD25 <sup>+</sup>	13,10 ± 7,43	16,22 ± 3,84	0,048
CD45RO <sup>+</sup>	49,35 ± 14,88	57,76 ± 7,19	0,127
CD95 <sup>+</sup>	5,44 ± 3,76	8,18 ± 5,40	0,138

\*Değerler mean ± Standard deviasyon (SD) olarak verilmiştir.

Astım süresi <10 yıl ve >10 yıl olan iki grup alt arasında CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> lenfosit düzeyleri, istatistiksel olarak birbirinden farklı (p=0,031) bulundu. Hastalık süresi ile birlikte CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> lenfosit düzeyleri artmaktadır.

Diğer testlerde, iki grup arasında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. Bu değerlere ait veriler tablo:15'de gösterilmektedir.

**Tablo 15:** Hasta grubu olgularının astım süresi 10 yıldan az ve 10 yıldan çok olarak alt gruplamasında CD95<sup>+</sup>45RO<sup>-</sup>, CD95<sup>+</sup>45RO<sup>+</sup>, CD95<sup>-</sup>45RO<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>45RO<sup>-</sup>, CD8<sup>+</sup>45RO<sup>+</sup>, CD8<sup>-</sup>45RO<sup>+</sup>, CD95<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>, CD95<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>, CD95<sup>-</sup>CD8<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>CD4<sup>-</sup>, CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> ve CD25<sup>-</sup>CD4<sup>+</sup> verileri.

	Astım Süresi <10 Yıl (n=19)	Astım Süresi >10 Yıl (n=11)	p
CD95 <sup>+</sup> 45RO <sup>-</sup>	0,326 ± 0,30	0,35 ± 0,49	0,707
CD95 <sup>+</sup> 45RO <sup>+</sup>	5,22 ± 3,49	7,14 ± 4,33	0,182
CD95 <sup>-</sup> 45RO <sup>+</sup>	43,10 ± 13,11	49,30 ± 7,80	0,212
CD8 <sup>+</sup> 45RO <sup>-</sup>	10,28 ± 3,89	11,44 ± 4,88	0,683
CD8 <sup>+</sup> 45RO <sup>+</sup>	12,84 ± 6,20	14,40 ± 3,20	0,245
CD8 <sup>-</sup> 45RO <sup>+</sup>	37,53 ± 11,03	44,69 ± 5,98	0,067
CD95 <sup>+</sup> CD8 <sup>-</sup>	3,47 ± 2,47	5,77 ± 3,63	0,102
CD95 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	1,86 ± 1,75	3,10 ± 2,98	0,228
CD95 <sup>-</sup> CD8 <sup>+</sup>	21,27 ± 8,14	22,77 ± 6,91	0,863
CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>-</sup>	3,03 ± 2,48	3,11 ± 1,35	0,620
CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	10,06 ± 5,31	13,10 ± 2,77	0,031
CD25 <sup>-</sup> CD4 <sup>+</sup>	28,18 ± 12,31	35,87 ± 7,33	0,132

\*Değerler mean ± Standard deviasyon (SD) olarak verilmiştir.

Çalıştığımız klinik ve laboratuvar verilerinin birbirleriyle ilişkisini saptamak amacıyla parametrelerarasında Pearson Korelasyon analizi uygulandı:

Hasta yaşı ile PEF değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı pozitif bir korelasyon ( $r=0,397$ ,  $p=0,03$ ), astım süresi ile FEV1 arasında negatif korelasyon ( $r=-0,448$ ,  $p=0,013$ ), FEV1 ile PEF arasında pozitif bir korelasyon ( $r=0,401$ ,  $p=0,028$ ) ve FEV1 ile VEGF arasında negatif korelasyon ( $r=-0,399$ ,  $p=0,029$ ) tespit edilmiştir.

Astım süresi ile FEV1 arasındaki negatif korelasyon dışında hiçbir test ile korelasyon tespit edilmedi.

CD4<sup>+</sup> düzeyleri ile FEV1 arasında negatif korelasyon ( $r=-0,467$ ,  $p=0,009$ ) ve CD4<sup>+</sup> düzeyleri ile CD25<sup>+</sup> arasında pozitif bir korelasyon ( $r=0,578$ ,  $p=0,001$ ), CD8<sup>+</sup> düzeyleri ile CD45RO<sup>+</sup> arasında pozitif bir korelasyon ( $r=0,632$ ,  $p=0,0001$ ) ve CD95<sup>+</sup> düzeyleri ile CD45RO<sup>+</sup> arasında pozitif bir korelasyon ( $r=0,445$ ,  $p=0,014$ ) tespit edilmiştir.

FEV1 düzeyleri ile CD25<sup>-</sup>CD4<sup>+</sup> arasında negatif bir korelasyon ( $r=-0,495$ ,  $p=0,005$ ) tespit edilmiştir.

Hasta grubuna ait korelasyonlar Tablo. 16 ve Tablo.17'de, hasta ve kontrol grubuna ait korelasyonlar Tablo. 18 ve Tablo. 19'da gösterilmiştir.



**Tablo 16 : Hasta grubunda (n=30) parametrelerin birbiriyle ilişkisini gösteren Pearson korelasyon analizi sonuçları**

		Yaş	Astım Süre	FEV1	PEF	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>	CD25 <sup>+</sup>	CD45RO <sup>+</sup>	CD95 <sup>+</sup>	PLGF	VEGF	VEGFR1	VEGFR2	hs-CRP
Yaş	r	1	0,24	-0,108	0,397(*)	0,261	0,034	0,097	0,137	-0,069	0,222	-0,218	0,251	0,02	0,201
	p		0,201	0,57	0,03	0,163	0,858	0,609	0,47	0,717	0,297	0,246	0,182	0,916	0,287
Astım Süre	r	0,24	1	-0,448(*)	-0,193	0,36	0,015	0,194	0,133	0,118	-0,059	0,204	0,055	0,105	0,183
	P	0,201		0,013	0,307	0,051	0,939	0,304	0,485	0,536	0,786	0,281	0,773	0,581	0,333
FEV1	R	-0,108	-0,448(*)	1	0,401(*)	-0,467(**)	-0,089	-0,121	-0,191	0,032	-0,148	-0,399(*)	-0,174	-0,067	-0,06
	p	0,57	0,013		0,028	0,009	0,642	0,525	0,311	0,869	0,489	0,029	0,357	0,725	0,753
PEF	r	0,397(*)	-0,193	0,401(*)	1	-0,018	0,035	0,074	0,071	0,034	-0,194	-0,156	0,345	-0,126	0,058
	p	0,03	0,307	0,028		0,924	0,852	0,698	0,711	0,859	0,365	0,409	0,062	0,506	0,76
CD4 <sup>+</sup>	r	0,261	0,36	-0,46(**)	-0,018	1	-0,117	0,578(**)	-0,064	-0,225	-0,139	-0,02	0,177	-0,008	0,213
	p	0,163	0,051	0,009	0,924		0,538	0,001	0,736	0,232	0,517	0,916	0,349	0,967	0,258
CD8 <sup>+</sup>	r	0,034	0,015	-0,089	0,035	-0,117	1	-0,205	0,632(**)	0,175	0,051	-0,005	-0,152	-0,301	-0,269
	p	0,858	0,939	0,642	0,852	0,538		0,277	0	0,355	0,813	0,978	0,422	0,106	0,15
CD25 <sup>+</sup>	r	0,097	0,194	-0,121	0,074	0,578(**)	-0,205	1	-0,153	0,014	-0,355	0,079	0,066	0,108	-0,04
	p	0,609	0,304	0,525	0,698	0,001	0,277		0,421	0,941	0,088	0,678	0,73	0,568	0,832
CD45RO <sup>+</sup>	r	0,137	0,133	-0,191	0,071	-0,064	0,632(**)	-0,153	1	0,445(*)	0,153	0,206	-0,086	-0,12	-0,083
	p	0,47	0,485	0,311	0,711	0,736	0	0,421		0,014	0,476	0,275	0,652	0,527	0,663
CD95 <sup>+</sup>	r	-0,069	0,118	0,032	0,034	-0,225	0,175	0,014	0,445(*)	1	-0,207	0,109	-0,281	0,093	-0,211
	p	0,717	0,536	0,869	0,859	0,232	0,355	0,941	0,014		0,332	0,567	0,133	0,625	0,264
PLGF	r	0,222	-0,059	-0,148	-0,194	-0,139	0,051	-0,355	0,153	-0,207	1	-0,057	-0,153	-0,233	0,394
	p	0,297	0,786	0,489	0,365	0,517	0,813	0,088	0,476	0,332		0,792	0,476	0,273	0,057
VEGF	r	-0,218	0,204	-0,399(*)	-0,156	-0,02	-0,005	0,079	0,206	0,109	-0,057	1	0,063	0,002	0,161
	p	0,246	0,281	0,029	0,409	0,916	0,978	0,678	0,275	0,567	0,792		0,741	0,99	0,394
VEGFR1	r	0,251	0,055	-0,174	0,345	0,177	-0,152	0,066	-0,086	-0,281	-0,153	0,063	1	-0,076	0,08
	p	0,182	0,773	0,357	0,062	0,349	0,422	0,73	0,652	0,133	0,476	0,741		0,689	0,675
VEGFR2	r	0,02	0,105	-0,067	-0,126	-0,008	-0,301	0,108	-0,12	0,093	-0,233	0,002	-0,076	1	-0,132
	p	0,916	0,581	0,725	0,506	0,967	0,106	0,568	0,527	0,625	0,273	0,99	0,689		0,488
hs-CRP	r	0,201	0,183	-0,06	0,058	0,213	-0,269	-0,04	-0,083	-0,211	0,394	0,161	0,08	-0,132	1
	p	0,287	0,333	0,753	0,76	0,258	0,15	0,832	0,663	0,264	0,057	0,394	0,675	0,488	

\* p<0,05 anlamlı olarak kabul edilmiştir. \*\*p<0,01 anlamlı olarak kabul edilmiştir.

**Tablo 17 : Hasta grubunda (n=30) parametrelerin birbiriyle ilişkisini gösteren Pearson korelasyon analizi sonuçlarının devamı**

		CD95 <sup>+</sup> 45RO <sup>-</sup>	CD95 <sup>+</sup> 45RO <sup>+</sup>	CD95 <sup>-</sup> 45RO <sup>-</sup>	CD8 <sup>+</sup> 45RO <sup>-</sup>	CD8 <sup>+</sup> 45RO <sup>+</sup>	CD8 <sup>-</sup> 45RO <sup>-</sup>	CD95 <sup>+</sup> CD8 <sup>-</sup>	CD95 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	CD95 <sup>-</sup> CD8 <sup>+</sup>	CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>-</sup>	CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	CD25 <sup>-</sup> CD4 <sup>+</sup>
Astım Süre	r	-0,161	0,076	0,082	0,104	-0,061	0,255	0,248	0,03	0,005	-0,02	0,274	0,325
	p	0,395	0,692	0,667	0,583	0,751	0,174	0,187	0,874	0,98	0,918	0,143	0,08
Yaş	r	-0,16	-0,115	0,172	-0,063	0,102	0,149	0,024	-0,086	0,06	-0,209	0,226	0,224
	p	0,398	0,547	0,362	0,742	0,593	0,432	0,9	0,652	0,752	0,267	0,23	0,234
FEV1	r	-0,011	0,096	-0,194	0,01	-0,136	-0,241	0,021	-0,063	-0,074	0,033	-0,18	-0,495(**)
	p	0,955	0,612	0,304	0,957	0,475	0,199	0,914	0,74	0,698	0,862	0,343	0,005
PEF	r	0,033	0,003	0,064	0,015	0,04	0,088	0,13	-0,052	0,053	-0,024	0,111	-0,069
	p	0,863	0,986	0,738	0,935	0,836	0,642	0,494	0,783	0,783	0,901	0,558	0,717
CD95 <sup>+</sup> 45RO <sup>-</sup>	r	1	0,713(**)	-0,038	0,036	0,078	0,146	0,645(**)	0,794(**)	-0,155	0,086	-0,109	-0,257
	p		0	0,844	0,848	0,68	0,443	0	0	0,414	0,653	0,566	0,171
CD95 <sup>+</sup> 45RO <sup>+</sup>	r	0,713(**)	1	0,229	-0,042	0,294	0,410(*)	0,873(**)	0,890(**)	-0,076	0,199	-0,009	-0,336
	p	0		0,223	0,825	0,115	0,024	0	0	0,689	0,291	0,964	0,07
CD95 <sup>-</sup> 45RO <sup>+</sup>	r	-0,038	0,229	1	0,254	0,719(**)	0,872(**)	0,225	0,153	0,593(**)	-0,339	-0,126	0,048
	p	0,844	0,223		0,176	0	0	0,232	0,418	0,001	0,067	0,509	0,802
CD8 <sup>+</sup> 45RO <sup>-</sup>	r	0,036	-0,042	0,254	1	0,339	0,133	0,015	-0,058	0,804(**)	-0,297	-0,251	0,019
	p	0,848	0,825	0,176		0,067	0,483	0,938	0,762	0	0,111	0,181	0,922
CD8 <sup>+</sup> 45RO <sup>+</sup>	r	0,078	0,294	0,719(**)	0,339	1	0,486(**)	0,144	0,359	0,775(**)	-0,053	-0,081	-0,109
	p	0,68	0,115	0	0,067		0,007	0,447	0,052	0	0,782	0,67	0,566
CD8 <sup>-</sup> 45RO <sup>-</sup>	r	0,146	0,410(*)	0,872(**)	0,133	0,486(**)	1	0,452(*)	0,255	0,336	-0,294	-0,067	0,035
	p	0,443	0,024	0	0,483	0,007		0,012	0,175	0,07	0,114	0,727	0,854
CD95 <sup>+</sup> CD8 <sup>-</sup>	r	0,645(**)	0,873(**)	0,225	0,015	0,144	0,452(*)	1	0,755(**)	-0,106	-0,036	-0,11	-0,177
	p	0	0	0,232	0,938	0,447	0,012		0	0,576	0,848	0,563	0,348
CD95 <sup>-</sup> CD8 <sup>+</sup>	r	0,794(**)	0,890(**)	0,153	-0,058	0,359	0,255	0,755(**)	1	-0,071	0,212	0,028	-0,176
	p	0	0	0,418	0,762	0,052	0,175	0		0,71	0,261	0,882	0,351
CD95 <sup>-</sup> CD8 <sup>-</sup>	r	-0,155	-0,076	0,593(**)	0,804(**)	0,775(**)	0,336	-0,106	-0,071	1	-0,266	-0,207	-0,009
	p	0,414	0,689	0,001	0	0	0,07	0,576	0,71		0,156	0,273	0,963
CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>-</sup>	r	0,086	0,199	-0,339	-0,297	-0,053	-0,294	-0,036	0,212	-0,266	1	0,742(**)	0,064
	p	0,653	0,291	0,067	0,111	0,782	0,114	0,848	0,261	0,156		0	0,737
CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	r	-0,109	-0,009	-0,126	-0,251	-0,081	-0,067	-0,11	0,028	-0,207	0,742(**)	1	0,376(*)
	p	0,566	0,964	0,509	0,181	0,67	0,727	0,563	0,882	0,273	0		0,04
CD25 <sup>-</sup> CD4 <sup>+</sup>	r	-0,257	-0,336	0,048	0,019	-0,109	0,035	-0,177	-0,176	-0,009	0,064	0,376(*)	1
	p	0,171	0,07	0,802	0,922	0,566	0,854	0,348	0,351	0,963	0,737	0,04	
CD95 <sup>+</sup>	r	0,766(**)	0,979(**)	0,212	-0,026	0,269	0,399(*)	0,931(**)	0,923(**)	-0,093	0,13	-0,039	-0,259
	p	0	0	0,261	0,892	0,151	0,029	0	0	0,625	0,494	0,84	0,168
CD45RO <sup>+</sup>	r	0,16	0,465(**)	0,957(**)	0,226	0,750(**)	0,928(**)	0,430(*)	0,369(*)	0,537(**)	-0,245	-0,099	-0,037
	p	0,4	0,01	0	0,23	0	0	0,018	0,045	0,002	0,192	0,603	0,847
CD8 <sup>+</sup>	r	0,078	0,183	0,624(**)	0,770(**)	0,862(**)	0,402(*)	0,113	0,219	0,958(**)	-0,197	-0,192	-0,062
	p	0,68	0,334	0	0	0	0,028	0,554	0,245	0	0,298	0,309	0,744
CD25 <sup>+</sup>	r	-0,052	0,059	-0,203	-0,281	-0,077	-0,145	-0,092	0,09	-0,238	0,871(**)	0,976(**)	0,297
	p	0,785	0,757	0,282	0,132	0,687	0,444	0,627	0,636	0,205	0	0	0,111
CD4 <sup>+</sup>	r	-0,248	-0,278	-0,004	-0,071	-0,117	0,006	-0,183	-0,135	-0,078	0,307	0,652(**)	0,948(**)
	p	0,187	0,137	0,983	0,709	0,538	0,976	0,333	0,478	0,681	0,098	0	0
PLGF	r	-0,186	-0,195	0,185	-0,011	0,087	0,21	-0,207	-0,186	0,102	-0,383	-0,316	-0,026
	p	0,385	0,36	0,388	0,959	0,686	0,325	0,331	0,385	0,636	0,064	0,133	0,903
VEGF	r	-0,096	0,105	0,182	-0,134	0,095	0,236	0,132	0,091	-0,03	-0,008	0,112	-0,071
	p	0,612	0,581	0,335	0,482	0,617	0,209	0,486	0,634	0,874	0,965	0,557	0,708
VEGFR-1	r	-0,151	-0,314	-0,02	-0,055	-0,179	0,014	-0,207	-0,276	-0,073	-0,066	0,119	0,166
	p	0,425	0,091	0,918	0,774	0,343	0,941	0,272	0,139	0,7	0,728	0,531	0,38
VEGFR-2	r	0,003	0,121	-0,2	-0,338	-0,175	-0,036	0,121	0,001	-0,308	0,23	0,045	-0,029
	p	0,989	0,525	0,291	0,068	0,355	0,851	0,526	0,994	0,097	0,222	0,811	0,88
hs-crp	r	-0,267	-0,211	-0,056	-0,164	-0,265	0,07	-0,098	-0,3	-0,186	-0,202	0,035	0,246
	p	0,154	0,262	0,768	0,387	0,157	0,714	0,606	0,108	0,324	0,285	0,855	0,19

\* p<0,05 anlamlı olarak kabul edilmiştir. \*\*p<0,01 anlamlı olarak kabul edilmiştir.

**Tablo 18 :** Hasta ve kontrol grubunda (n=50) parametrelerin birbiriyle ilişkisini gösteren Pearson korelasyon analizi sonuçları

		Astım Süre	Yaş	FEV1	PEF	CD4 <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup>	CD25 <sup>+</sup>	CD45RO <sup>+</sup>	CD95 <sup>+</sup>	PLGF	VEGF	VEGFR-1	VEGFR-2	hs-CRP
Astım Süre	r	1	0,24	-0,448(*)	-0,193	0,36	0,015	0,194	0,133	0,118	-0,059	0,204	0,055	0,105	0,183
	p		0,201	0,013	0,307	0,051	0,939	0,304	0,485	0,536	0,786	0,281	0,773	0,581	0,333
Yaş	r	0,24	1	-0,108	0,397(*)	0,185	0,043	0,006	0,134	-0,144	0,195	-0,248	0,187	-0,083	0,21
	p	0,201		0,57	0,03	0,198	0,767	0,969	0,355	0,318	0,227	0,083	0,193	0,565	0,144
FEV1	r	-0,448(*)	-0,108	1	0,401(*)	-0,467(**)	-0,089	-0,121	-0,191	0,032	-0,148	-0,399(*)	-0,174	-0,067	-0,06
	p	0,013	0,57		0,028	0,009	0,642	0,525	0,311	0,869	0,489	0,029	0,357	0,725	0,753
PEF	r	-0,193	0,397(*)	0,401(*)	1	-0,018	0,035	0,074	0,071	0,034	-0,194	-0,156	0,345	-0,126	0,058
	p	0,307	0,03	0,028		0,924	0,852	0,698	0,711	0,859	0,365	0,409	0,062	0,506	0,76
CD4 <sup>+</sup>	r	0,36	0,185	-0,467(**)	-0,018	1	-0,259	0,545(**)	-0,051	-0,124	-0,185	-0,066	0,16	-0,029	0,197
	p	0,051	0,198	0,009	0,924		0,07	0	0,723	0,392	0,252	0,648	0,268	0,842	0,171
CD8 <sup>+</sup>	r	0,015	0,043	-0,089	0,035	-0,259	1	-0,246	0,624(**)	0,113	-0,049	-0,064	-0,215	-0,324(*)	-0,246
	p	0,939	0,767	0,642	0,852	0,07		0,085	0	0,435	0,763	0,661	0,133	0,022	0,085
CD25 <sup>+</sup>	r	0,194	0,006	-0,121	0,074	0,545(**)	-0,246	1	-0,139	0,124	-0,218	0,154	0,12	0,192	-0,009
	p	0,304	0,969	0,525	0,698	0	0,085		0,335	0,391	0,177	0,286	0,405	0,181	0,95
CD45RO <sup>+</sup>	r	0,133	0,134	-0,191	0,071	-0,051	0,624(**)	-0,139	1	0,336(*)	0,045	0,079	-0,136	-0,213	-0,096
	p	0,485	0,355	0,311	0,711	0,723	0	0,335		0,017	0,785	0,587	0,346	0,137	0,508
CD95 <sup>+</sup>	r	0,118	-0,144	0,032	0,034	-0,124	0,113	0,124	0,336(*)	1	-0,137	0,2	-0,097	0,122	-0,168
	p	0,536	0,318	0,869	0,859	0,392	0,435	0,391	0,017		0,399	0,164	0,502	0,397	0,244
PLGF	r	-0,059	0,195	-0,148	-0,194	-0,185	-0,049	-0,218	0,045	-0,137	1	0,096	-0,003	0,036	0,416(**)
	p	0,786	0,227	0,489	0,365	0,252	0,763	0,177	0,785	0,399		0,555	0,986	0,825	0,008
VEGF	r	0,204	-0,248	-0,399(*)	-0,156	-0,066	-0,064	0,154	0,079	0,2	0,096	1	0,2	0,195	0,189
	p	0,281	0,083	0,029	0,409	0,648	0,661	0,286	0,587	0,164	0,555		0,164	0,175	0,188
VEGFR-1	r	0,055	0,187	-0,174	0,345	0,16	-0,215	0,12	-0,136	-0,097	-0,003	0,2	1	0,028	0,168
	p	0,773	0,193	0,357	0,062	0,268	0,133	0,405	0,346	0,502	0,986	0,164		0,849	0,245
VEGFR-2	r	0,105	-0,083	-0,067	-0,126	-0,029	-0,324(*)	0,192	-0,213	0,122	0,036	0,195	0,028	1	0,004
	p	0,581	0,565	0,725	0,506	0,842	0,022	0,181	0,137	0,397	0,825	0,175	0,849		0,976
hs-CRP	r	0,183	0,21	-0,06	0,058	0,197	-0,246	-0,009	-0,096	-0,168	0,416(**)	0,189	0,168	0,004	1
	p	0,333	0,144	0,753	0,76	0,171	0,085	0,95	0,508	0,244	0,008	0,188	0,245	0,976	

\* p<0,05 anlamlı olarak kabul edilmiştir. \*\*p<0,01 anlamlı olarak kabul edilmiştir

**Tablo 19 : Hasta ve kontrol grubunda (n=50) parametrelerin birbiriyle ilişkisini gösteren Pearson korelasyon analizi sonuçlarının devamı**

		CD95 <sup>+</sup> 45RO <sup>-</sup>	CD95 <sup>+</sup> 45RO <sup>+</sup>	CD95 <sup>-</sup> 45RO <sup>+</sup>	CD8 <sup>+</sup> 45RO <sup>-</sup>	CD8 <sup>+</sup> 45RO <sup>+</sup>	CD8 <sup>-</sup> 45RO <sup>+</sup>	CD95 <sup>+</sup> CD8 <sup>-</sup>	CD95 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	CD95 <sup>-</sup> CD8 <sup>+</sup>	CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>-</sup>	CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	CD25 <sup>-</sup> CD4 <sup>+</sup>
Astım Süre	R	-0,161	0,076	0,082	0,104	-0,061	0,255	0,248	0,03	0,005	-0,02	0,274	0,325
	P	0,395	0,692	0,667	0,583	0,751	0,174	0,187	0,874	0,98	0,918	0,143	0,08
Yaş	R	-0,227	-0,18	0,175	-0,098	0,138	0,124	-0,073	-0,128	0,078	-0,246	0,113	0,179
	P	0,113	0,211	0,224	0,5	0,34	0,39	0,612	0,375	0,59	0,085	0,435	0,215
FEV1	R	-0,011	0,096	-0,194	0,01	-0,136	-0,241	0,021	-0,063	-0,074	0,033	-0,18	-0,495(**)
	P	0,955	0,612	0,304	0,957	0,475	0,199	0,914	0,74	0,698	0,862	0,343	0,005
PEF	R	0,033	0,003	0,064	0,015	0,04	0,088	0,13	-0,052	0,053	-0,024	0,111	-0,069
	P	0,863	0,986	0,738	0,935	0,836	0,642	0,494	0,783	0,783	0,901	0,558	0,717
CD95 <sup>+</sup> 45RO <sup>-</sup>	R	1	0,568(**)	-0,124	0,115	-0,073	0,06	0,397(**)	0,640(**)	-0,155	0,091	-0,025	-0,173
	P		0	0,393	0,428	0,616	0,677	0,004	0	0,283	0,529	0,861	0,229
CD95 <sup>+</sup> 45RO <sup>+</sup>	R	0,568(**)	1	0,071	0,013	0,226	0,329(*)	0,851(**)	0,869(**)	-0,064	0,254	0,112	-0,259
	P	0		0,622	0,93	0,115	0,02	0	0	0,658	0,076	0,439	0,069
CD95 <sup>-</sup> 45RO <sup>+</sup>	R	-0,124	0,071	1	0,287(*)	0,679(**)	0,775(**)	0,032	0,006	0,619(**)	-0,305(*)	-0,158	0,03
	P	0,393	0,622		0,043	0	0	0,825	0,969	0	0,031	0,273	0,839
CD8 <sup>+</sup> 45RO <sup>-</sup>	R	0,115	0,013	0,287(*)	1	0,337(*)	0,047	-0,023	-0,071	0,785(**)	-0,24	-0,309(*)	-0,118
	P	0,428	0,93	0,043		0,017	0,744	0,874	0,624	0	0,093	0,029	0,415
CD8 <sup>+</sup> 45RO <sup>+</sup>	R	-0,073	0,226	0,679(**)	0,337(*)	1	0,400(**)	0,045	0,262	0,799(**)	-0,036	-0,138	-0,213
	P	0,616	0,115	0	0,017		0,004	0,758	0,066	0	0,802	0,341	0,137
CD8 <sup>-</sup> 45RO <sup>+</sup>	R	0,06	0,329(*)	0,775(**)	0,047	0,400(**)	1	0,390(**)	0,236	0,236	-0,263	-0,014	0,123
	P	0,677	0,02	0	0,744	0,004		0,005	0,098	0,099	0,065	0,923	0,393
CD95 <sup>+</sup> CD8 <sup>-</sup>	R	0,397(**)	0,851(**)	0,032	-0,023	0,045	0,390(**)	1	0,752(**)	-0,176	0,037	0,034	-0,071
	P	0,004	0	0,825	0,874	0,758	0,005		0	0,222	0,797	0,817	0,622
CD95 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup>	R	0,640(**)	0,869(**)	0,006	-0,071	0,262	0,236	0,752(**)	1	-0,116	0,248	0,115	-0,153
	P	0	0	0,969	0,624	0,066	0,098	0		0,422	0,083	0,428	0,29
CD95 <sup>-</sup> CD8 <sup>+</sup>	R	-0,155	-0,064	0,619(**)	0,785(**)	0,799(**)	0,236	-0,176	-0,116	1	-0,222	-0,297(*)	-0,172
	P	0,283	0,658	0	0	0	0,099	0,222	0,422		0,122	0,036	0,233
CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>-</sup>	R	0,091	0,254	-0,305(*)	-0,24	-0,036	-0,263	0,037	0,248	-0,222	1	0,703(**)	-0,003
	P	0,529	0,076	0,031	0,093	0,802	0,065	0,797	0,083	0,122		0	0,981
CD25 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup>	R	-0,025	0,112	-0,158	-0,309(*)	-0,138	-0,014	0,034	0,115	-0,297(*)	0,703(**)	1	0,379(**)
	P	0,861	0,439	0,273	0,029	0,341	0,923	0,817	0,428	0,036	0		0,007
CD25 <sup>-</sup> CD4 <sup>+</sup>	R	-0,173	-0,259	0,03	-0,118	-0,213	0,123	-0,071	-0,153	-0,172	-0,003	0,379(**)	1
	P	0,229	0,069	0,839	0,415	0,137	0,393	0,622	0,29	0,233	0,981	0,007	
CD95	R	0,584(**)	0,972(**)	0,038	-0,015	0,173	0,343(*)	0,928(**)	0,914(**)	-0,126	0,185	0,086	-0,181
	P	0	0	0,791	0,918	0,231	0,015	0	0	0,383	0,198	0,551	0,209
CD45RO	R	0,035	0,362(**)	0,933(**)	0,231	0,731(**)	0,889(**)	0,304(*)	0,283(*)	0,552(**)	-0,215	-0,094	-0,026
	P	0,811	0,01	0	0,106	0	0	0,032	0,046	0	0,134	0,516	0,859
CD8	R	0,013	0,163	0,618(**)	0,764(**)	0,865(**)	0,298(*)	0,021	0,145	0,966(**)	-0,154	-0,263	-0,21
	P	0,927	0,257	0	0	0	0,035	0,886	0,315	0	0,285	0,065	0,143
CD25	R	0,01	0,165	-0,216	-0,308(*)	-0,115	-0,095	0,037	0,165	-0,294(*)	0,847(**)	0,974(**)	0,283(*)
	P	0,944	0,252	0,132	0,029	0,428	0,513	0,799	0,252	0,039	0	0	0,047
CD4	R	-0,153	-0,181	-0,025	-0,197	-0,222	0,099	-0,049	-0,091	-0,238	0,22	0,634(**)	0,956(**)
	P	0,29	0,208	0,861	0,171	0,122	0,495	0,735	0,529	0,096	0,125	0	0
PLGF	R	-0,094	-0,128	0,051	-0,056	-0,027	0,115	-0,142	-0,11	-0,024	-0,22	-0,198	-0,136
	P	0,565	0,431	0,753	0,731	0,871	0,479	0,383	0,499	0,883	0,173	0,221	0,403
VEGF	R	0,037	0,186	-0,001	-0,105	-0,013	0,141	0,201	0,189	-0,113	0,094	0,165	-0,142
	P	0,796	0,196	0,992	0,47	0,929	0,328	0,162	0,189	0,436	0,514	0,252	0,326
VEGFR-1	R	-0,06	-0,163	-0,164	-0,135	-0,206	0,033	-0,023	-0,067	-0,201	-0,021	0,17	0,127
	P	0,679	0,257	0,255	0,351	0,151	0,819	0,875	0,645	0,162	0,884	0,238	0,381
VEGFR-2	R	0,084	0,143	-0,282(*)	-0,267	-0,264	-0,111	0,121	0,056	-0,340(*)	0,278	0,138	-0,087
	P	0,561	0,32	0,048	0,061	0,064	0,442	0,403	0,7	0,016	0,05	0,34	0,549
hs-crp	R	-0,18	-0,174	-0,078	-0,142	-0,247	0,059	-0,075	-0,244	-0,184	-0,156	0,055	0,215
	P	0,212	0,228	0,592	0,327	0,084	0,685	0,605	0,088	0,201	0,278	0,705	0,134

\* p<0,05 anlamlı olarak kabul edilmiştir. \*\*p<0,01 anlamlı olarak kabul edilmiştir.

## V. TARTIŞMA

Astım dünya çapında yaklaşık 300 milyon kişiyi etkilemektedir. Her yıl dünyada 250 bin kişi astımdan ölmekte ve prevalans ile mortalite arasında bir bağlantı bulunmamaktadır (2). Bu yüksek oranlar ve hastalığın patofizyolojisinin, hala tam anlaşılammış olması (2), bu konuda patofizyolojiye yönelik çalışmaların güçlü şekilde devam etmektedir.

Astım kronik inflamatuvar, ataklarla seyreden bir hastalıktır. Birçok hücre inflamatuvar olayda rol almaktadır. İnflamasyonu yöneten T hücreleridir ve Th2 hücrelerin salgıladıkları mediatörler bu yönetime aracılık eder. İnflamasyon sonucu yeni kan damarı oluşumu, değişik mekanizmalar ile örneğin eozinofillerden salınan VEGF ve diğer anjiogenik mediatörlerin etkisi veya pulmoner ve bronşial dolaşımın bozulması gibi nedenlerle çok uzun süre zarfında görülebilmektedir (37).

Astım patofizyolojisine yönelik çalışmamızda değerlendirdiğimiz orta persistan grubu astım hastalarında; serum VEGF, PLGF, VEGFR-1 ve VEGFR-2 düzeylerine bakılmış, hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. Hasta grubunda VEGF, PLGF, VEGFR-1 ve VEGFR-2 düzeyleri, kontrol grubundan anlamlı olarak, yüksek tesbit edilmiştir.

Çalışmaya katılan, hasta ve kontrol grubu hs-CRP düzeyleri arasında, istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır. Astım inflamatuvar bir hastalık olduğu için, hs-CRP ölçümü akut alevlenmelerin takibinde ve astımın şiddetinin belirlenmesinde kullanılabilir. Astım derecesi arttıkça, hs-CRP düzeylerinde kademeli bir artış görülmektedir (59, 60). Bizim sonuçlarımızla, çalışmaya katılan hastaların akut atak geçirmediğini, mevcut enfeksiyonun bulunmadığını göstermektedir. Hasta ve kontrol grubu arasındaki Hs-CRP düzeyleri arasında fark olmaması hastaların akut dönemde olmadığını da bir belirtisi olarak kabul edilebilir. Hasta ve kontrol birey seçimlerinin doğruluğunu da göstermektedir.

Hastalık süresine göre astım grubunu alt gruplara ayırdığımızda ise 5 yıldan uzun süredir ve 10 yıldan uzun süredir astım hastası olan alt grupları sırasıyla, 5 yıldan daha az

ve 10 yıldan daha az astım hastası olan gruplara göre FEV1 değerleri, istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur. Yine astım süresi ile FEV1 arasında ki negatif korelasyon ( $r=-0,448$ ,  $p=0,013$ ) bu bulgumuzu desteklemektedir.

Hastalık süresi 5 yıldan az ve 5 yıldan fazla olan iki grup arasında ve hastalık süresi 10 yıldan az ve 10 yıldan fazla olan iki grup arasında VEGF, PLGF, VEGFR-1, VEGFR-2, hs-CRP düzeyleri, istatistiksel olarak birbirinden farklı bulunmamıştır. Astım süresi ile FEV1 arasındaki negatif korelasyon dışında, hiçbir test ile korelasyon da tespit edilmemiştir. Astım süresiyle her hangi bir test arasında korelasyon bulamamış olmamız; çeşitli nedenlerden kaynaklanabilir. Çalışmaya katılan hastalar, çalışmamıza katıldıklarında tedaviye uyum gösteriyorlardı. Fakat, daha öncesinde aldığı tedaviyi doğru uygulamamış olma ihtimali, tanı konmadan geçirilmiş yılların mevcut olması nedeniyle, astım süresi ve mevcut kriterler arasında ilişki olmaması muhtemel olabilir.

Astım süresiyle diğer testler arasında ilişki olmasa da; FEV1 ile VEGF arasında negatif korelasyon ( $r=-0,399$ ,  $p=0,029$ ) bulunması, hastalığın şiddetinin artması ile VEGF düzeylerinin artabileceğini akla getirmektedir. Bu hususta tedaviye uyum önem kazanmaktadır.

VEGF keşfedilmesiyle, anjiogenezis çalışmalarında değişimler olmuştur. VEGF anjiogenezisle ilgili birçok temel olayı kontrol etmektedir. VEGF konsantrasyonu ve akciğerlerdeki VEGFR ekspresyonu ile etkinliği belirlenmektedir. Çeşitli hastalıklarda değişik düzeylerde VEGF konsantrasyonları bulunmuştur. VEGF tedavisini amaçlayan durumlarda, yarar zarar durumu, dikkatlice irdelenmelidir(61).

Astımda VEGF'nin potansiyel patolojik rolü, hava yolu remodelizasyonu ve inflamasyonu olduğu yakın geçmişli çalışmalar ile bilinmektedir. Astmatik kişilerin yapılan akciğer biyopsilerinde VEGF, VEGFR ve anjiopietin-1 düzeylerinin artmış olduğu görülmüştür ve VEGF düzeyleri, havayolu vaskülaritesi ile ilişkilidir. Astmatik akciğerdeki hücre migrasyonunun, eosinofillerdeki VEGF'nin proinflamatuvar etkisiyle olduğu düşünülmektedir. Bundan başka; VEGF, astmatik bronşiyal mukozada Th2 yönetiminde, hipervaskülarite ve ödeme neden olmaktadır ve dentritik hücreler gelişmekte ve maturasyon oluşmaktadır. Mürin astma modellerinde, VEGF aktivasyonu ile VEGF-NO yolu aktive olmaktadır. Glukokortikoidler astım tedavisinde kullanılmaktadırlar, in vitro olarak VEGF transkripsiyonunu baskılamaktadırlar ve VEGF düzeyini azalttığı oranda vaskülariteyi de azaltmaktadır, hastalığın patofizyolojisinde VEGF'nin rolünün daha fazla olduğunu göstermektedir(61).

Ayyareci ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, 15 hafif–orta dereceli bronşiyal astımı hastasının, tedavi öncesi ve 4 aylık inhale steroid tedavisi sonrası alınan bronş biyopsilerinde, bazal membran kalınlığı, mast hücre sayısı ve eozinofil sayısı ve aktivitesi üzerindeki etkinliğini araştırmışlardır (62). Hafif-orta dereceli hastalarda yapılan bronş biyopsilerinde, bazal membran kalınlığında ve mast hücre sayısında, 4 aylık inhale steroid tedavisi sonrası anlamlı derecede azalma tespit edilmiş. Konvansiyonel boyama yöntemleriyle, eozinofil ve aktif eozinofil sayısında anlamlı bir azalma tespit edilmez iken, immunhistokimyasal boyama yapıldığında aktif eozinofil sayısındaki azalma ileri derece anlamlı bulunmuş. Ayrıca inhale steroid tedavisi sonrası (4. ay sonrası) FEV1, %FEV1, PEF, %PEF de anlamlı düzelme tespit edilmiş (62). Bu çalışmada görülen sonuçlar Faul ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile benzeşmektedir. Dokuz atopik astımlı hastaya inhale flutikason kullanmışlar. Fiber optik bronkoskopi ile bronşiyal biyopsi ile tedavi öncesi, tedavinin 2. ve 8. haftalarında bronkoskopi ile değerlendirilmiş ve inflamasyonun azaldığı görülmüştür (63). Kanazawa ve arkadaşları ise çalışmalarında; üç grup oluşturmuşlar, 10 steroid tedavisi almayan astımlı hasta, 13 steroid tedavisi alan astımlı hasta ve 10 kontrol üzerinde yaptıkları çalışmada; hastalara spesifik LT1 reseptör antagonisti pranlukast 4 hafta süreyle vermişlerdir. Dört hafta sonra steroid tedavisi almayan gruptaki hastalarda VEGF düzeylerinin azaldığı görülmüştür (64).

Kanazawa ve arkadaşlarının yaptıkları diğer bir çalışmada inflamatuvar mediyatörlere bakmışlar ancak bazı farklılıklar bulmuşlardır. Araştırmacılar klasik astımı olan 16, öksürük varyant astım olarak tanımladıkları öksürük eşlik eden astımlı 16 hasta ve 12 kontrolü çalışmada değerlendirmişlerdir. Olgularını daha önce steroid tedavisi başlanmamış olgular arasından seçmişlerdir. Kanazawa ve ark. Araştırmalarında çalışma gruplarında PC20 (birinci saniye zorlu ekspiratuar volümü %20 azaltan provokatif metakolin dozu) ve ekshalasyon havasındaki nitrik oksit düzeyini ölçmüşler, ayrıca hipertonic salin ile uyarak elde ettikleri balgam örneğinde hücre sayımları ve eozinofilik katyonik protein analizi yapmışlardır (65). Bakılan tüm parametrelerin hem öksürük varyant astım, hem klasik astımda, kontrol grubundan farklı olduğunu bulmuşlardır. Klasik astımı olan grubun, VEGF ve permeabilite faktörleri, anlamlı olarak daha yüksektir. Her iki astmatik popülasyonda, VEGF düzeyleri FEV1/FVC ve PC20 ile negatif korelasyon göstermiştir (65).

VEGF, hem fizyolojik, hem de patolojik anjiyogenezde, rol oynayan bir büyüme faktörüdür. Retinopatiler, psöriyazis, astım bronşiyale, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, alerjik dermatit, nazal polipler, endometriyoz, artrit, beyin ödemi gibi birçok benign

durumda, VEGF düzeyinin arttığı ileri sürülmüştür (66). Bununla birlikte, VEGF'nin en kapsamlı olarak kanserlerde araştırılmaktadır. Meme, gastrointestinal sistem, baş-boyun, malign melanom, böbrek, mesane, over, serviks, santral sinir sistemi, karaciğer kanserleri gibi solid organ tümörleri ve lösemi, lenfoma, multipl miyeloma gibi hematolojik malignitelere VEGF düzeyinin arttığı gösterilmiştir (67-70).

Akciğer VEGF açısından zengin bir dokuya sahiptir. Akciğerde, bronşiyal mukoza, bronş düz kas hücresi, tip 2 pnömosit ve alveoler makrofaj gibi birçok farklı hücre VEGF üretir ve VEGF yanıtı oluşturur. Akciğer kanserli hastalarda da, serum VEGF düzeylerinde artış olduğu ileri sürülmüştür. Kishiro ve arkadaşları tedavi edilmemiş ileri evre akciğer kanseri, tedavi edilmiş akciğer kanseri, benign akciğer hastalığı ve kontrol olguları içeren dört gruplu çalışmalarında, tedavi edilmemiş, ileri evre akciğer kanserli hastaların, serum VEGF düzeylerini diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek saptamışlardır (71).

Serum VEGF düzeyinin yanı sıra doku ve bronkoalveoler lavaj (BAL) sıvısında da VEGF araştırılmıştır. Baillie ve arkadaşları küçük hücreli akciğer kanseri tanılı 81 hastanın tümünde, tümör dokusunda ve komşu akciğer dokusunda VEGF ekspresyonunu göstermişlerdir (72). Nakashimo ve arkadaşları ise tümör dokusunda VEGF ekspresyonu ile histolojik tip arasında ilişki saptamamış, ancak VEGF pozitif adenokarsinomlularda lenf nodu metastazını ve hipervasküler tümör sıklığını anlamlı derecede yüksek saptamışlardır (73). Bu çalışmada VEGF pozitif adenokarsinomlu olgularda sağ kalım süresinin daha kısa olduğu izlenmiştir.

VEGF fetal ve postnatal distal hava yolu epitelial hücrelerinden salgılanmakta ve mikrovaskülarite ile ilgilidir (74, 75). Hipoksi, çeşitli growth faktörler ve inflamatuvar sitokinler VEGF salgılanmasını düzenlemektedir (76). İnsan hava yollarında VEGF'nin iki ana reseptörü VEGFR-1 ve VEGFR-2 dir (77). VEGF aktivitesini VEGFR-1 ve VEGFR-2 üzerinden göstermektedir. VEGFR-1 ve VEGFR-2, yetişkinlerde beyin damar endotel hücreleri hariç diğer damar endotel hücreleri tarafından eksprese edilmektedirler. VEGFR-1 aynı zamanda hematopoetik, myelom ve lösemik hücreler tarafından da eksprese edilmektedir (78).

Feltis ve arkadaşları inhale kortikosteroid ve plasebo kullanan astımlı hastalarda, tedavi öncesi ve tedaviden üç ay sonra bronkoskopik biyopside VEGF, VEGFR-1 ve VEGFR-2 düzeylerine ve BAL sıvısında VEGF düzeylerine bakmışlar. VEGF reseptör boyanmasında bir değişiklik olmaz iken, histopatolojik incelmede damar oluşumunun azaldığını görmüşlerdir (79).



Feng ve arkadaşları neonatal ratlara %75'lik oksijen uygulamışlar ve VEGF, VEGFR-1 ve VEGFR-2 düzeylerini kontrol grubuna göre anlamlı düşük bulmuşlardır. Uzun süre yüksek oksijene maruziyet bronkopulmoner displazi ile sonuçlanmakta ve akciğer damarlanması baskılanmaktadır (80).

Farnesiferol C Asya'da kanser tedavisinde kullanılan *Ferula assafoetida* bitkisinden elde edilen bir bitkisel ilaç ile tedavi yöntemidir. İlaç 10-40 umol/L konsantrasyonunda VEGF'nin neden olduğu proliferasyon, migrasyon ve invazyon ile matriks metalloproteinaz-2'yi inhibe ettiği gözlenmiştir. İlaç, VEGF'nin VEGFR-1'e bağlanmasını engellerken, VEGFR-2'ye bağlanmasını engellemediği gözlenmiştir (81).

Detoraki ve arkadaşları mast hücrelerinin anjiogenik ve lenfanjiogenik faktörlerin hem hedefi hem de kaynağı olduğunu, inflamatuvar ve neoplastik anjiogenesis de VEGF ve reseptörlerinin rolü olduğunu göstermişlerdir (82).

Feltis ve arkadaşları 35 astımlı hastada, biyopsi örneklerinde VEGF, VEGFR-1 ve VEGFR-2 düzeylerine ve BAL sıvısında VEGF düzeyine bakmışlar. VEGF, VEGFR-1 düzeylerini BAL ve biyopsi örneklerinde artmış olarak bulmuşlardır (83). Bu sonuçlar bizim çalışmamızdaki serum VEGF, VEGFR-1 ve VEGFR-2 düzeylerindeki artışla paralellik göstermektedir.

Verhaeghe ve arkadaşları kistik fibrozisli hastalardan elde edilen endotel hücre kültürlerinde VEGF-A, PLGF ve VEGF-C düzeylerine bakmışlar, kontrollerden yüksek olarak bulmuşlardır. Bunun sebebinde inflamasyon olduğunu düşünmektedirler (84).

Cheng ve arkadaşları kronik obstruktif akciğer hastalığında (KOA), VEGF ve PLGF düzeylerine bakmışlardır. KOA'lı hastalarda, sigara içen ve içmeyen kontrollere göre PLGF düzeylerini yüksek bulmuşlardır. Benzer şekilde, BAL sıvısında da hastalarda VEGF ve PLGF yüksek bulmuşlardır. FEV1 ile, serum ve BAL, PLGF düzeyleri arasında da negatif korelasyon tesbit etmişlerdir. VEGF serum düzeyleri ise KOA ve kontrol hastalarında birbirinden farklı bulunmamıştır. BAL VEGF düzeyleri ise, hastalarda kontrollerden anlamlı düşük bulunmuş ve yazarlar bunun nedeninin devam eden tedaviyle ilişkili olduğunu tespit etmişlerdir (85). Astım olgularında serum PLGF analizi literatürde ilk kez çalışılmış ve bizim sonuçlarımız da yazarlarla uyumlu şekilde astım hastalarında serum PLGF düzeyleri yüksek olarak bulunmuştur.

Bu araştırmaların sonucunda astım tedavi ile astımdaki inflamasyonun azaldığı ve dolayısı ile serum VEGF düzeylerinin de azalabileceğini beklemekteyiz. Dolayısıyla çalışmamızın sonucunda astım süresi ile çalıştığımız; VEGF, PLGF, VEGFR-1, VEGFR-2, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, CD45RO<sup>+</sup> ve CD95<sup>+</sup>'in arasında korelasyon saptanmamasının

nedeni tedavi süresince inflamasyonun gerilemesi ve belirteç düzeylerinin azalması şeklinde açıklamaktayız.

Astımlı hastalarda bulduğumuz sonuçlar diğer çalışmalardaki bronkoskopi ve biyopsi ile bulunan sonuçlarla örtüşmektedir. Serumda VEGF, PLGF, VEGFR-1 ve VEGFR-2 düzeylerinin ölçümü ile, bronkoskopiye gerek kalmadan, inflamasyon ve angiogenez hakkında bilgi almak mümkün olabileceğini düşünüyoruz.

Hasta ve kontrol grubunun flow sitometrik analizinde  $CD4^+$ ,  $CD8^+$ ,  $CD25^+$ ,  $CD45RO^+$  ve  $CD95^+$  testlerinde, iki grup arasında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. Hastalık süresi 5 yıldan fazla olan astımlılarda,  $CD4^+$  düzeyleri, 10 yıldan fazla olan astımlılarda,  $CD4^+$  ve  $CD25^+$  lenfosit düzeyleri, artmaktadır. Ayrıca, hastalık süresi 5 yıldan fazla olan astımlılarda,  $CD25^+CD4^+$  lenfosit düzeylerinin, hastalık süresi 10 yıldan fazla olan astımlılarda  $CD25^+CD4^+$  lenfosit düzeylerinin arttığı bulunmuştur.

Çalışmamızda  $CD4^+$  lenfosit düzeyleri ile FEV1 arasında ve FEV1 düzeyleri ile  $CD25^+CD4^+$  arasında negatif bir korelasyon tespit edilmiştir.  $CD4^+$  düzeyleri ile  $CD25^+$  lenfosit düzeyleri,  $CD8^+$  düzeyleri ile  $CD45RO^+$ , ve  $CD95^+$  düzeyleri ile  $CD45RO^+$  arasında pozitif bir korelasyon tespit edilmiştir.

Erten ve arkadaşları non-atopik ve atopik astmatik olgularda periferik kan lenfositlerinde aktivasyonu ve RANTES (normal T hücrede eksprese ve sekrete edilen, aktivasyonla düzenlenen) ekspresyonunu ortaya koymayı amaçlamışlardır.  $CD3^+$ ,  $CD4^+$ ,  $CD8^+$ ,  $CD16^+$ ,  $CD23^+$ ,  $CD25^+$ ,  $CD45RA^+$  ve  $CD45RO^+$  ekspresyonları 22 astım hastası ve 20 sağlıklı kontrol olgusunda flow sitometri ile; RANTES düzeyleri ise ELISA ile saptamışlardır. astımlı olgularda  $CD45RO^+$  ve  $CD23^+$  ekspresyonları sağlıklı bireylere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur, benzer şekilde  $CD25^+$  ekspresyonu da astımda yükselmiştir. Buna karşılık periferik lenfosit RANTES salınımlarında astmatik olgular ve sağlıklı bireyler arasında fark saptanmamıştır. Atopik ve non-atopik astımlı hastalar karşılaştırıldığında; atopik astımda  $CD25^+$  ve  $CD23^+$  ekspresyonları, anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. T hücrelerinin aktivasyon durumundaki değişiklikler, bu hücrelerin atopik ve non-atopik astım patogenezindeki rolünü işaret etmektedir (86). Bizim çalışmamızda  $CD45RO^+$  düzeylerinde, astımlı hastalarda veya astım süresiyle ilgili, bir değişme yoktu.  $CD25^+$  düzeyleri ise, astım süresi ile orantılı olarak artmaktadır.

Zhang ve arkadaşları stabil ve akut astımlı hastalarda  $CD4^+CD25^+$  regülatuar T (Tregs) hücrelerine bakmışlar ve sağlıklı kontrollerle aralarında fark bulamamışlardır. Ancak akut atak sırasında  $CD4^+CD25^+$  azaldığını tesbit etmişlerdir (87). Biz ise

çalışmamızda hastalık süresi 10 yıldan fazla olan astımlılarda CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T regülatuar lenfosit hücre düzeylerinin arttığı tesbit ettik.

Gemicioğlu ve arkadaşları, allerjik ve allerjik olmayan bronş astması olgularında ve sağlıklı sigara içmeyen gönüllü olgularda, karşılaştırmalı olarak, periferik kanda lenfosit altgrupları ve aktivasyon belirleyicileri farklılıkları incelemişler. CD2<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, CD56<sup>+</sup>, CD23<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, CD40<sup>+</sup>, CD45RA<sup>+</sup>, CD45RO<sup>+</sup>, HLA-DR testlerini flow sitometride analizetmişlerdir. CD3<sup>+</sup> ve CD4<sup>+</sup> hücreler sağlıklı gruba göre allerjik ve allerjik olmayan astımlı gruplarda arttığı gözlenmiştir. Allerjik olmayan grupta, diğer gruplara göre CD2<sup>+</sup>, CD45RO<sup>+</sup> artmış, CD23<sup>+</sup> ve CD25<sup>+</sup>'in her iki astmatik olgu grubunda ve sağlıklı olgularda, stabil dönemde farklılık göstermemiştir (88). Bizim bulduğumuz sonuçlarda ise astım yılı arttıkça CD4<sup>+</sup> ve CD25<sup>+</sup> düzeyleri yüksek olarak saptanmıştır.

Azzawi ve arkadaşları stabil durumdaki atopik astmatikler, non astmatik atopik olgular ve nonatopik sağlıklı kontrollerin, santral ve subsegmental bronş mukoza biyopsilerini incelediklerinde iki ayrı dereceden farklı sonuçlar elde etmişlerdir. Santral bronştan mukoza biyopsilerinde CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup> atopik astmatiklerde diğer iki gruba (non astmatik atopik ve non atopik sağlıklı olgular) göre artmış olarak gözlenmiştir. Subsegmental biyopsilerde CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>'de atopik astmatiklerle diğer gruplar arasında fark bulunmamıştır (89). Bu bulgular mukoza biyopsilerinde de alınan yere göre değişik sonuçlar elde edildiğini göstermektedir. Bu karmaşık durum olguların hastalık dereceleri ile de ilişkili görünmektedir.

Synek ve arkadaşları astım sonucu ölen olgularda, ciddi astımda intraepitelyal CD3<sup>+</sup> düzeyinin düştüğünü göstermişlerdir (90). Richmond ve arkadaşları da çeşitli derecelerdeki astmatik olguları değişik zamanlarda (stabil dönemde olmak üzere), bronş mukoza biyopsisi olarak intraepitelyal T lenfositlerini incelemişler ve farklı sonuçlar elde etmişlerdir (91). Bu nedenle aynı olguların, değişik zamanlarda incelenmesinin, kanda da farklı sonuçlar verip vermeyeceği, göz ardı edilmemelidir.

Allerjik olmayan astımlılarda, CD3<sup>+</sup> ve CD4<sup>+</sup> lenfositleri için Walker ve arkadaşları, atopiklere göre düşük düzey saptamışlar (92). Bentley ve arkadaşları ise, artmış CD3<sup>+</sup> ve CD4<sup>+</sup> belirleyicileri gözlemişlerdir (93). Periferik kanda astmatik olgularda Baric ve arkadaşları, CD8<sup>+</sup> düzeyini düşük saptamışlar ve IgE düzeyi artışı ile korele olduğunu göstermişlerdir (94).

Çeşitli çalışmalardaki bulgular IL-2 reseptörü CD25<sup>+</sup>'in bilhassa akut evrede ve atopik olgularda arttığını göstermektedir (90, 91, 95, 96). CD25'deki artışını, Corrigan ve arkadaşları bronş obstrüksiyonun da artış ile paralel gittiğini de ortaya koymuşlardır (97).

Metzgen ve arkadaşları ise allerjen provokasyonundan sonra kompartmanlaşma nedeni ile periferik kanda  $CD25^+$  düzeyinin düştüğünü gözlemişlerdir (98). Çalışmamızdaki olgularda kontrol ve hasta grupları arasında  $CD25^+$  düzeyinde anlamlı farklılık saptanmamıştır. Bu durum; olguların stabil olmaları, ağır obstrüksiyonlarının bulunmayışı olasılıklarını düşündürmüştür. Hastalık süresi, 10 yıldan fazla olan astımlılarda ise  $CD25^+$  düzeyleri artmış olarak bulunmuştur. Bu durum inflamasyonun kronik etkisinden kaynaklanmış olabileceğini düşünmekteyiz.

Xu ve arkadaşları astımlı hastalarda ve kontrollerde  $CD4^+CD25^+$ ,  $CD4^+CD25^-$  T hücrelerinden oluşturdukları kültürlerde, IL-10 düzeylerine bakmışlar. IL-10 düzeylerini,  $CD4^+$  T hücre kültürü ile  $CD4^+CD25^+$  Tregs/ $CD4^+CD25^-$  kültürlerinde,  $CD4^+CD25^+$  ve  $CD4^+CD25^-$ 'in tek başına olan kültürlerinden, daha yüksek sonuçlar bulmuşlar (99).

Wei ve arkadaşları, immunterapi tedavisi alan çocuklarda yaptıkları araştırmada,  $CD4^+CD25^+$  fonksiyonlarının arttığını göstermişlerdir (100). Fakat Moniuszko ve arkadaşları oral glukokortikoid tedavisi alan astımlı hastalarda  $CD4^+CD25^+CD127^-$  ve  $CD4^+CD25^{++}$  oranlarında fark tespit edememişlerdir (101). Bizde çalışmamızda, tedavi altında olan hastalarda, astım süresi ile birlikte  $CD4^+CD25^+$  ve  $CD4^+CD25^-$  düzeylerinin arttığını ve FEV1 düzeyleri ile  $CD25^-CD4^+$  arasında negatif bir korelasyon olduğunu tesbit ettik.

Todo-Bom ve arkadaşları, 30 yıldan fazla süredir astım hastası olan 65 yaşından büyük orta persistan astımlı hasta (n=64), yaşlı kontrol grubu (n=41) ve genç kontrol grubu (n=20) çalışmaya dahil etmişlerdir. Anti-CD3, anti-CD4, anti-CD8, anti-CD25, anti-TCR  $\gamma\delta$ , anti-HLA-DR ve anti-CD95 antikorları ile periferik kanda lenfositlerde flow sitometrik analiz yapmışlardır.  $CD3^+$ ,  $CD4^+$ ,  $CD8^+$ , HLA-DR düzeylerinde gruplar arası fark tesbit etmemişler, apoptozis markırı olan  $CD95^{+}$ 'i ve aktivasyon markırı olan  $CD25^{+}$ 'i yaşlı grubunda artmış olarak bulmuşlardır. Astımlı hastalarda, aynı yaştaki kontrol grubuna göre anlamlı olarak,  $CD25$  düzeyleri düşüktür.  $CD95^+$  ve  $CD3^+CD25^+$  arasında kuvvetli negaif korelasyon bulmuşlardır (102). Yazarların saptadıkları yaşlı astım grubunda  $CD4^+$  ( $48.8 \pm 8.7$ ),  $CD8^+$  ( $23.3 \pm 7.9$ ),  $CD25^+$  ( $14.3 \pm 5.9$ ), yüzdeleri bizim bulgularımızla  $CD4^+$  ( $42,1 \pm 13,7$ ),  $CD8^+$  ( $24,1 \pm 7,8$ ),  $CD25^+$  ( $14,2 \pm 6,46$ ) örtüşmektedir. Yazarların bulduğu  $CD95^+$  ( $6,4 \pm 4,5$ ) değerleri ise bizim  $CD95^+$  ( $49.3 \pm 13.7$ ) verilerimizle uyuşmamaktadır.

Nguyen ve arkadaşları, periferik kanda mononükleer hücrelerde flow sitometrik analizde T regülatuar hücreleri  $CD4^+$  ve  $CD25^+$  markerleriyle belirlemişler ve astım patolojisinde, periferik kanda mononükleer hücrelerde yapılan, T regülatuar hücrelerin astım patogenezi üzerine etkisi olduğu ileri sürmüşlerdir (103).

Önceki çalışmalarda astımlılarda, CD4<sup>+</sup> hücre oranları yüksek olarak bulunmuştur ve bu durum hastalık şiddeti ve astım patogenezi ile korelasyon göstermektedir. Astımlı hastalarda aynı yaştaki kontrol grubuna göre anlamlı olarak CD25<sup>+</sup> düzeyleri düşüktür (104). Biz ise çalışmamızda CD4<sup>+</sup> hücre oranlarının astım süresi ile arttığını, FEV1 ile de ters korele olduğunu tespit ettik. Buradan da hastalık şiddeti ve astım patogenezi ile korelasyon gösterdiğini bizim verilerimiz de literatürle paralel olarak saptanmıştır.

Bazı çalışmalara göre steroidler astımda apoptotik hücre miktarını CD95<sup>+</sup> ve CD25<sup>+</sup> ekspresyonunu azaltmaktadır (105, 106). İlave olarak Fas sistemi astımda tipik olarak TH2 ile ilişkili olarak daha az aktive olmaktadır (25, 107, 108).

CD45 tüm lökositlerde yüzey markırı olarak bulunur (109). Hava yolunda ki bir çok T hücre CD45RO yüzey markırını taşımaktadır (86). CD45R0, hafıza T hücre reseptörü olup, geç astmatik cevapta rol alır ve eozinofil akümüasyonu ile paralel düzeylerde seyretmektedir (110). Astımlı hastalarında CD45RO düzeylerinde literatürde farklı çalışmalarda artış veya azalmalar bildirilmiştir (86).

Machura ve arkadaşları alerjik astımlı çocuklarda T hücrelerin CD45RA<sup>+</sup>, CD45RO<sup>+</sup> ve CD25<sup>+</sup> ekspresyonlarını araştırmışlardır (111). CD8<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup> oranı kontrollere göre yüksek, CD4<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup> ve CD3<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> oranı kontrollere göre düşük bulmuşlardır (111). Astım hastalığının ciddiyeti ile periferik kan lenfosit subtipleri arasında korelasyon saptanmamıştır. Astımlı çocuklar ile sağlıklı kontrol grubu arasında periferik kan T hücrelerinde bellek hücrelerinde farklılık saptanmıştır. Alerjik astımı olan çocuklarda CD8<sup>+</sup> T hücrelerin bellek markeri (CD45RO) sayıca artmış bulunması CD8<sup>+</sup> T hücrelerinin astım patogenezinde rol oynayabileceğinin bir göstergesi olarak kabul edilmiştir. CD8<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup> T hücrelerinin astımlı çocuklarda artışı alerjik hastalıkların patogenezinde lenfosit subpopulasyonunun önemli rol oynadığının düşündürmüştür. Bizim çalışmamızda ise CD45RO<sup>+</sup> düzeyleri gruplar arasında farklılık göstermiyordu. CD8<sup>+</sup> ve CD95<sup>+</sup> düzeyleri ile pozitif bir korelasyon göstermekteydi.

Sonuçta, lenfosit altgrup ve aktivasyon belirleyicilerinin gruplar arası farklılıklarının, periferik kanda da saptanmış olması, bilhassa ilaç etkilerinin araştırılacağı çalışmalarda, çok ayrıntılı olgu seçimlerinin gerekliliğini ortaya koymuştur.

## VI. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmaya, astım tanısı konmuş, takip ve tedaviye uyumlu, orta persistan evredeki 30 astımlı hasta, çalışma grubuna ve 20 gönüllü sağlıklı birey de, kontrol grubuna dahil edilmiştir. Çalışmamızda anjiogenez ve CD markerlarının orta persistan evredeki astımlılar ile sağlıklı kontroller de analiz edilerek kıyaslanması amaçlanmıştır. Yeni damar oluşumu, inflamasyonun sonucu olarak görüldüğünden astımda da benzer mekanizmanın etkili olması beklenmektedir. Çalışmadan elde edilen sonuçlar, aşağıda özetlenmiştir;

1. Hasta ve kontrol grubunun demografik verileri arasında fark yoktu.
2. Hasta grubunda 24, kontrol grubunda 16 kişinin PLGF düzeyleri ölçülebilir aralıkta idi. Hasta grubu serum VEGF, PLGF, VEGFR-1 ve VEGFR-2 düzeyleri kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur
3. Çalışmaya katılan, hasta ve kontrol grubu hs-CRP düzeyleri arasında, istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.
4. Hasta ve kontrol grubunun flow sitometrik Cd markerlarının analizinde CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, CD45RO<sup>+</sup> ve CD95<sup>+</sup> testlerinde, iki grup arasında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.
5. Hasta ve kontrol grubu CD95<sup>+</sup>45RO<sup>+</sup> kıyaslandığında hasta grubu değerleri kontrol grubundan düşük saptanmış olup istatistiksel olarak sınırda anlamlı bir fark (p=0,06) saptanmıştır.
6. Astım hastaları, hastalık süresi 5 yıldan az ve 5 yıldan fazla olmak üzere gruplandırıldığında; Hastalık Süresi 5 yıldan az 14 hasta, hastalık süresi 5 yıldan çok olan 16 hasta mevcuttu. Bu gruplandırmada, hastalık süresi 5 yıldan az 12 hastanın ve hastalık süresi 5 yıldan çok olan 12 hastanın PLGF düzeyleri ölçülebilir aralıkta idi.
7. FEV1 değerleri, hastalık süresi>5 yıldan fazla olan astım olgularında hastalık süresi<5 yıldan az olan olgulara oranla istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur.

8. Hastalık süresi 5 yıldan az ve 5 yıldan fazla olan iki grup arasında VEGF, PLGF, VEGFR-1, VEGFR-2, hs-CRP düzeyleri istatistiksel olarak birbirinden farklı değildi.
9. Hastalık süresi 5 yıldan az ve 5 yıldan fazla olan iki grup arasında CD4<sup>+</sup> düzeyleri istatistiksel olarak birbirinden farklı bulundu. Hastalık süresi uzadıkça CD4<sup>+</sup> düzeylerinin arttığı gözlenmiştir. CD8<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup>, CD45RO<sup>+</sup> ve CD95<sup>+</sup> testlerinde, iki grup arasında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.
10. Hastalık süresi 5 yıldan az ve 5 yıldan fazla olan iki grup arasında CD25<sup>-</sup> CD4<sup>+</sup> lenfosit düzeyleri, istatistiksel olarak birbirinden farklı bulundu. Hastalık süresi ile birlikte CD25<sup>-</sup>CD4<sup>+</sup> düzeyleri artmaktadır.
11. Hastalık süresi 10 yıldan az ve 10 yıldan fazla iki grup oluşturulduğunda; hastalık süresi 10 yıldan az 19 hasta, hastalık süresi 10 yıldan çok olan 11, hasta mevcuttu. Bu hastalardan astım süresi 10 yıldan az 15 hastanın ve astım süresi 10 yıldan çok olan 9 hastanın serum PLGF düzeyleri ölçülebilir aralıkta idi.
12. Hastalık süresi 10 yıldan fazla olan olguların FEV1 değerleri, hastalık süresi 10 yıldan az olan olguların FEV1 değerlerinden, istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmuştur.
13. Hastalık süresi 10 yıldan az ve 10 yıldan fazla olan iki grup arasında serum VEGF, PLGF, VEGFR-1, VEGFR-2, hs-CRP düzeyleri arasında istatistiksel olarak fark saptanmamıştır.
14. Hastalık süresi 10 yıldan az ve 10 yıldan fazla olan iki grup arasında CD4<sup>+</sup> ve CD25<sup>+</sup> lenfosit düzeyleri istatistiksel olarak birbirinden farklı bulundu. Astım hastalık süresi uzadıkça CD4<sup>+</sup> ve CD25<sup>+</sup> lenfosit düzeyleri artmaktadır. CD8<sup>+</sup>, CD45RO<sup>+</sup> ve CD95<sup>+</sup> testlerinde, iki grup arasında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.
15. Hastalık süresi 10 yıldan az ve 10 yıldan fazla olan iki grup arasında CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> lenfosit düzeyleri, istatistiksel olarak birbirinden farklı bulundu. Hastalık süresi ile birlikte CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> lenfosit düzeyleri artmaktadır.
16. İstatistiksel olarak hasta yaşı ile PEF değerleri (r=0,397, p=0,03) ve FEV1 ile PEF arasında (r=0,401, p=0,028) anlamlı pozitif bir korelasyon

saptanmıştır. Astım süresi ile FEV1 ( $r=-0,448$ ,  $p=0,013$ ) ve FEV1 ile VEGF ( $r=-0,399$ ,  $p=0,029$ ) arasında negatif korelasyon tespit edilmiştir.

17. CD4<sup>+</sup> düzeyleri ile FEV1 arasında ( $r=-0,467$ ,  $p=0,009$ ) negatif korelasyon ve CD4<sup>+</sup> düzeyleri ile CD25<sup>+</sup> ( $r=0,578$ ,  $p=0,001$ ), CD8<sup>+</sup> düzeyleri ile CD45RO<sup>+</sup> ( $r=0,632$ ,  $p=0,0001$ ) ve CD95<sup>+</sup> düzeyleri ile CD45RO<sup>+</sup> arasında ( $r=0,445$ ,  $p=0,014$ ) pozitif bir korelasyonlar tespit edilmiştir.
18. FEV1 düzeyleri ile CD25<sup>-</sup>CD4<sup>+</sup> arasında negatif bir korelasyon ( $r=-0,495$ ,  $p=0,005$ ) tespit edilmiştir.

Çalışmamızda bulduğumuz şu sonuçlarla; astımlı hastalarda vaskülojeniz markırlarının yükseldiği, astım hastalık süresinin arttıkça CD4<sup>+</sup> ve CD25<sup>+</sup> lenfosit düzeylerinin arttığı, FEV1 ile VEGF ve CD4<sup>+</sup> lenfosit düzeyleri arasında negatif korelasyon, astım evresinin artmasıyla yeni damar oluşumunun ve CD4<sup>+</sup> hücre düzeyinin arttığını bize göstermektedir. Astım hastalarında tedaviye uyumun sağlanmasıyla anjiogenezin kısmen yavaşlatılabileceğini düşündürmüştür. Anjiogenezis parametreleri olan serum VEGF, PLGF, VEGFR1 ve VEGFR2 konsantrasyonlarının hasta grup ile sağlıklı kontroller arasında ayırt edici özellik taşıdığını düşünmekteyiz. Klinik açıdan kullanabilmek amacıyla daha fazla olgu sayısını içeren çalışmalarla serum VEGF, PLGF, VEGFR1 ve VEGFR2 konsantrasyonlarının standartlaştırılması gerektiğini düşünmekteyiz. Ancak çalışmamızda 5 ve 10 yıllık astım hastalarının serum VEGF, PLGF, VEGFR1 ve VEGFR2 düzeyleri incelendiğinde aralarında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Bu durum oluşturulan alt gruplardaki örnek sayılarının azalmasından kaynaklanabileceği gibi serum düzeylerinin evreleri ayırt edecek düzeyde serum değerlerinin farklı olmamasından da kaynaklanabilir düşüncesindeyiz. Farklı astım evrelerinde çok sayıda hasta içeren ileri araştırmalarla serum VEGF, PLGF, VEGFR1 ve VEGFR2 düzeylerinin incelenmesi gerektiğini ve böylece anjiogenezin astım evreleri arasındaki olası farklılıklarının serum değerlerine yansıyor yansımadığının gösterilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Astımda anjiogenez patolojisinin aydınlatılması astım olgularının tedavisinde kullanılacak yeni tedavi prokolleri ve yeni ilaç moleküllerinin üretimi açısından önem taşıdığı kanısındayız.



## VII. ÖZET

**Amaç:** Astım kronik inflamatuvar bir hastalık olup hastalığın patofizyolojisi, hala tam olarak anlaşılamamıştır. Astımda yeni damar oluşum mekanizması halen yoğun biçimde araştırılmaktadır. Çalışmamızda, astım hastalarındaki remodelizasyon göstergelerinden olan; vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF), Plasental büyüme faktörü (PLGF), vasküler endotel büyüme faktörü reseptörü-1 (VEGFR-1), vasküler endotel büyüme faktörü reseptörü-2 (VEGFR-2) gibi anjiogenik markırları, CD4, CD8, CD25, CD45RO, CD95 gibi hücre yüzey belirteçlerini ve inflamasyon göstergesi hs-CRP'nin incelenmesi amaçlanmıştır.

**Gereç yöntem:** Çalışmaya, 30 orta persistan astımlı hasta hasta grubuna ve 20 sağlıklı gönüllü kontrol grubuna dahil edilmiştir. Tüm olgulardan çalışma başında bir kez venöz kan örneği alınmıştır. Hasta grubuna solunum fonksiyon testi uygulanmıştır. Serum VEGF, PLGF, VEGFR-1, VEGFR-2 düzeyleri ELISA yöntemi ile, serum hs-CRP immunassay yöntemi ile ve CD4, CD8, CD25, CD45RO, CD95 hücre yüzey belirteçleri flow sitometri yöntemiyle çalışılmıştır.

**Bulgular:** Astım ve kontrol grubu arasında VEGF, PLGF, VEGFR-1, VEGFR-2 düzeyleri anlamlı olarak birbirinden farklı bulunmuştur (sırasıyla  $p= 0,002$ ,  $p= 0,004$ ,  $p= 0,006$ ,  $p= 0,001$ ). Hs-CRP düzeylerinde ise hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık ( $p= 0,227$ ) gözlenmemiştir. Hastalık süresi ile çalışma parametreleri arasında bir ilişki saptanmamıştır. CD4, CD8, CD25, CD45RO, CD95 hücre yüzey belirteçleri için iki grup arasında da anlamlı bir fark (sırasıyla  $p= 0,401$ ,  $p= 0,184$ ,  $p= 0,186$ ,  $p= 0,127$ ,  $p= 0,446$ ) saptanmamıştır. Hastalık süresi 5 yıldan fazla olanların 5 yıldan az olanlara göre, CD4<sup>+</sup> ve CD25<sup>-</sup>CD4<sup>+</sup> lenfosit düzeyleri, artmış, hastalık süresi 10 yıldan fazla olan grupta 10 yıldan az olanlara göre, CD4<sup>+</sup> ve CD25<sup>+</sup> lenfosit düzeyleri artmış olduğu gözlenmiştir. FEV1 ile VEGF arasında ( $r=-0,399$ ,  $p=0,029$ ) ve FEV1 ile CD4<sup>+</sup> düzeyleri arasında negatif korelasyon ( $r=-0,467$ ,  $p=0,009$ ) tesbit edilmiştir.

**Sonuç:** Astımlı hasta grubunda anjiogenez markırlarının sağlıklı kontrollerden yüksek olması, astım patofizyolojisinde anjiogenez mekanizmasının önemini göstermektedir.

Astım hastalarında serum PLGF düzeyleri ilk kez çalışmamızda incelenmiş ve sağlıklı konrollere kıyasla astım hastalarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı tespit edilmiştir. İleri araştırmalarda astımda farklı evrelerdeki hastalarda serum VEGF, PLGF, VEGFR-1, VEGFR-2 düzeylerinin incelenmesi astımdaki vaskülogenezis mekanizması konusunda daha ayrıntılı bilgiler sağlayabilecektir. Ayrıca, FEV1 ve VEGF arasındaki saptadığımız negatif ilişki örneğinde olduğu gibi serum VEGF, PLGF, VEGFR-1, VEGFR-2 düzeylerinin astım hastalarında evrelendirmede de yardımcı olabileceğini düşünmekteyiz. Söz konusu anjiogenez patofizyolojisini aydınlatacak çalışmalar yeni ilaçlar içinde yol gösterici olacaktır kanısındayız.

**Anahtar Kelimeler:** Astım, VEGF, PLGF, VEGFR-1, VEGFR-2, flow sitometri, hücre yüzey markırları, anjiogenez,

## VIII. İNGİLİZCE ÖZET (SUMMARY)

**Objective:** Asthma is a chronic inflammatory disease which the pathophysiology of the disease still remains to be obscure. New vessel formation in asthma is an era that is still waiting to be explained. The aim of the present study is to investigate the angiogenesis markers; vascular endothelial growth factor (VEGF), placental growth factor (PLGF), vascular endothelial growth factor receptor-1 (VEGFR-1), vascular endothelial growth factor receptor-2 (VEGFR-2); and the cell surface markers of CD4, CD8, CD25, CD45RO, CD95 and further hs-CRP as an inflammation indicator in asthmatic patients and healthy controls.

**Materials and methods:** Thirty moderate persistent asthma patients and twenty healthy volunteers were enrolled to asthma and the control group respectively. Venous blood samples were obtained at the beginning of the study from all patients and controls. Pulmonary function test was administered only to the patient group. Serum VEGF, PLGF, VEGFR-1, VEGFR-2 levels were assessed by ELISA, serum hs-CRP were assessed by immunoassay method and CD4, CD8, CD25, CD45RO, CD95 cell surface markers were analysed by flow cytometric methods.

**Results:** The VEGF, PLGF, VEGFR-1, VEGFR-2 levels were significantly different between the asthma and control groups ( $p=0.002$ ,  $p=0.004$ ,  $p=0.006$ ,  $p=0.001$ , respectively). Hs-CRP was not found to be different between the two study groups ( $p=0.227$ ). There was no correlation between the disease duration and the study parameters. There was no significant difference in the cell surface markers CD4, CD8, CD25, CD45RO, CD95 ( $p=0.401$ ,  $p=0.184$ ,  $p=0.186$ ,  $p=0.127$ ,  $p=0.446$ , respectively) between the two study groups. However, in patients groups that have more than five years of asthma duration have a higher CD4<sup>+</sup> and CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> lymphocyte levels than the disease duration less than five years. Similarly, patients that have the disease duration more than ten years have a higher CD4<sup>+</sup> and CD25<sup>+</sup> lymphocyte levels than the disease duration less than ten years. There was a negative correlation between VEGF and FEV1 ( $r=-0.399$ ,  $p=0.029$ ) and FEV1 and CD4<sup>+</sup> levels ( $r=-0.467$ ,  $p=0.009$ ) in the were determined.

**Conclusion:** High concentrations of the angiogenetic markers in the asthmatic patients compared to healthy controls shows the importance of angiogenesis in asthma

pathophysiology. This is the first study to compare the serum PLGF concentrations between the asthmatic patients and healthy controls. Serum PLGF was found significantly increased in asthmatic patients compared to healthy controls. Further investigations on serum VEGF, PLGF, VEGFR-1 and VEGFR-2 concentrations of different stages of asthmatic patients may illuminate the vasculogenesis mechanism in asthma patients and further aid in staging of the asthmatic patients as seen in negative relation of FEV1 and VEGF concentrations. We believe these studies on angiogenesis pathophysiology may help to develop new anti-asthmatic drugs.

**Key words:** asthma, VEGF, PLGF, VEGFR-1, VEGFR-2, flow cytometry, cell surface markers, angiogenesis

## IX. KAYNAKLAR

1. Lemanske RF Jr, Busse WW. Asthma: clinical expression and molecular mechanisms. *J Allergy Clin Immunol.* 2010;125(2):95-102.
2. Global Strategy for Asthma Management and Prevention 2010(update) Available from: URL<http://www.ginasthma.org/Guidelineitem.asp?i1=2&i2=1&intId=>
3. Masoli M, Fabian D, Holt S, Beasley R. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report. *Allergy* 2004; 59(5): 469-78.
4. Şakar A, Yorgancıoğlu A, Dinç G, Yüksel H, Çelik P, Manisa ilinde Astım ve Allerjik Semptom Prevalansı *Toraks Dergisi*, 2005;6(3):202-9
5. Kalyoncu AF. Ülkemizde Bronş Astması Epidemiyolojisi. Kalyoncu AF. ed. Bronş Astması. Atlas Kitapçılık Tic.Ltd.Sti., Ankara 2001;1-15
6. Türктаş H. , Etyoloji ve Patogenez. Ulusal Verilerle Astma. Kalyoncu AF, Türктаş H. ed. Kent Matbaa, Ankara 1999;39-89
7. Gemicioğlu B. *Tanımdan Tedaviye Astım*. İstanbul: Turgut Yayıncılık ve Ticaret AŞ; 2004
8. Gemicioğlu B. Brons Astımı. Erk M. ed. Göğüs hastalıkları II. Cilt Santay Matbaacılık, İstanbul 2001;619-61
9. Jeffery PK, Turato G, Saetta M. Pathology of asthma. *Eur Respir*,2003;23:114-25
10. Türктаş H., Türктаş İ. Astım. Bozkır Matbacılık, Ankara 1998; 56-72
11. Türктаş H. Astmada Hava Yolu İnflamasyonu. Kalyoncu F.ed. Bronş Astması ve Alerji Hastalıkları. Modern Tıp Seminerleri:4.Güneş Kitabevi Ltd. Sti. Ankara 1999;9-37
12. Zhang J, Pare PD, Sandford AJ. Recent advances in asthma genetics. *Respir Res* 2008, 15; 9:4.
13. Küçükusta AR. Epidemiyoloji. Gemicioğlu B. ed. Tanımdan Tedaviye Astım. Turgut Yayıncılık ve Ticaret A.S. istanbul 2005;5-26

14. Musani AI, Pascual RM, Peters SP. Asthma. Adelman DC, Casale TB, Corren J, editörler. *Manual of Allergy and Immunology*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins: 2002
15. Dinmezel S, Oğus C, Erengin H, Çilli A, Özbudak O, Özdemir T. The prevalence of asthma, allergic rhinitis and atopy in Antalya, Turkey. *Allergy Asthma Proc* 2005; 26(5): 403-9.
16. Çakır Edis E, Tabakoğlu E, Çağlar T, Hatipoğlu O.N, Altıay G Trakya Bölgesinde Pulmoner Semptomlarla Başvuran Hastalarda Alerji Deri Testi Sonuçları Trakya Univ Tıp Fak Derg 2007;24(1):12-16
17. Yılmaz A, İnönü H, Göçmen Öcal S, Çelikel S, Doruk S, Etikan İ, Seyfikli Z, Tokat bölgesinde astım hastalarında prik test duyarlılığı ve duyarlılığın solunum fonksiyon testleri ile ilişkisi *Asthma Allergy Immunol* 2009;7:44-51
18. Bıçakçı A, Çelenk S, Altunoğlu MK, Bilişik A, Canitez Y, Malyer H, Sapan N, Allergenic airborne *Gramineae* (Grass) pollen concentrations in Turkey, *Asthma Allergy Immunol* 2009;7:90-9
19. Kırmaz C. Sigaranın alerjik duyarlaşma ve astım gelişimine etkileri. *Astım Allerji İmmünoloji Bülteni* 2007; 5(3,1): 98-9
20. Lazarus SC, Chinchilli VM, Rollings NJ, Boushey HA, Cherniack R, Craig TJ, Deykin A, DiMango E, Fish JE, Ford JG, Israel E, Kiley J, Kraft M, Lemanske RF Jr, Leone FT, Martin RJ, Pesola GR, Peters SP, Sorkness CA, Szeffler SJ, Wechsler ME, Fahy JV; National Heart Lung and Blood Institute's Asthma Clinical Research Network. Smoking affects response to inhaled corticosteroids or leukotriene receptor antagonists in asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007;175(8):783-90.
21. Sharma M. Understanding the mechanism of toxicity of carbon nanoparticles in humans in the new millennium: A systemic review. *Indian J Occup Environ Med*. 2010;14(1):3-5.
22. Boneberger A, Radon K, Baer J, Kausel L, Kabesch M, Haider D, Schierl R, von Kries R, Calvo M. Asthma in changing environments--chances and challenges of international research collaborations between South America and Europe—study protocol and description of the data acquisition of a case-control-study. *BMC Pulm Med*. 2010;10:43.
23. Wilczynska-Kwiatek A, Bargiel-Matusiewicz K, Lapinski L. Asthma, allergy, mood disorders, and nutrition. *Eur J Med Res*. 2009;14(4):248-54.

24. Miller. Buse WW, Holgate ST. Cellular and mediator mechanisms of allergic inflammation. Holgate ST, Church MK, Lichtentein LM (eds) Allergy.Mosby, London 2001;337352
25. Vignola AM, Chanez P, Chiappara G, Siena L, Merendino A, Reina C, Gagliardo R, Profita M, Bousquet J, Bonsignore G. Evaluation of apoptozis of eosinophils, macrophages and T lymphocytes in mucosal biopsy specimens of patients with asthma and chronic bronchitis. J Allergy Clin Immunol. 1999;103:563-73
26. Önder M.R, Barutçuoğlu B, Ege Üniversitesi yayınları Endotel. 2005, 940
27. Montuschi P, Kharitonov SA, Ciabattoni G, Barnes PJ. Exhaled leukotrienes and prostoglandins in COPD. Thorax 2003; 58: 585-8.
28. Green SA, Malice M-P, Tanaca W, Tozzi CA. Increase in urinary leukotriene LTE<sub>4</sub> levels in acute asthma: correlation with airflow limitation. Thorax 2004; 59: 100-4
29. Yıldırım H, Bronkodilatör tedavinin hücresel temelleri Osmangazi Üniversitesi TıpFakültesi Dergisi 2004;26 (2):93-114
30. Simon HU. Targeting apoptosis in the control of inflammation. Eur Respir. J. 2003;22 (44):20-1.
31. Steven R. White and Delbert R. Dorscheid Corticosteroid-Induced Apoptosis of Airway Epithelium : A Potential Mechanism for Chronic Airway Epithelial Damage in Asthma Chest 2002;122;278-84
32. Adams JM. Way of dying: Multiple pathways to apoptosis. Genes Dev. 2003 Oct 15;17:2481-95
33. Mohammed W. Al-Rabia, Morgan G. Blaylock, Darren W. Sexton, and Garry M. Walsh Membrane receptor-mediated apoptosis and caspase activation in the differentiated EoL-1 eosinophilic cell line, Journal of Leukocyte Biology Volume 75, 2004
34. Woolley KL, Gibson PG, Carty K, Wilson AJ, Twaddell SH, Woolley MJ. Eosinophils apoptosis and the resolution of airway inflammation in asthma. Am J Crit Care Med. 1996;154:237-43
35. Ohta K, Yamashita N. Apoptosis of eosinophils and lymphocytes in allergic inflammation. J Allergy Clin Immunol. 1999;104:14-21
36. Ho CY, Wong CK, Ko FW, Chan CH, Ho AS, Hui DS, Lam CW. Apoptosis and B cell lymphoma-2 of peripheral blood T lymphocytes and soluble Fas in patients with allergic asthma. Chest. 2002;122:1751-58

37. Asosingh K, Erzurum S.C, Angioplasticity in asthma, *Biochem. Soc. Trans.* (2009) 37, 805–10.
38. Hashimoto M, Tanaka H, Abe S. Quantitative analysis of bronchial wall vascularity in the medium and small airways of patients with asthma and COPD. *Chest* 2005;127:965–972.
39. Chetta A, Zanini A, Olivieri D. Therapeutic approach to vascular remodelling in asthma. *Pulm Pharmacol Ther* 2007;20:1–8.
40. Taneli F, "Flow" Sitometri Tekniği ve Klinik Laboratuvarlarda Kullanımı *Türk Klinik Biyokimya Derg* 2007; 5(2): 75-82
41. Beckman Coulter Flow cytometri catalog 2007-2008
42. Mac Gabhann F, Popel AS. Systems biology of vascular endothelial growth factors. *Microcirculation.* 2008;15(8):715-38.
43. Yazır Y, Gonca S, Filiz S, Dalçık H. Endotel hücreleri için önemli bir protein ailesi; Vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) , ailenin üyeleri ve sentezi. *C. Ü. Tıp Fakültesi* 2004; 26(4):181-84
44. Otrock ZK, Makarem JA, Shamseddine AI. Vascular endothelial growth factor family of ligands and receptors: review. *Blood Cells Mol Dis.* 2007;38(3):258-68.
45. Robert Roskoski Jr, VEGF receptor protein–tyrosine kinases: Structure and regulation, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 375 (2008) 287–91
46. Ribatti D, The discovery of plasental growth factor and its role in angiogenesis: a historical review. *Angiogenesis.* 2008;11(3):215-21.
47. Taylor AP, Leon E, Goldenberg DM. Placental growth factor (PlGF) enhances breast cancer cell motility by mobilising ERK1/2 phosphorylation and cytoskeletal rearrangement. *Br J Cancer.* 2010;103(1):82-9.
48. Cheng SL, Wang HC, Yu CJ, Tsao PN, Carmeliet P, Cheng SJ, Yang PC. Prevention of elastase-induced emphysema in placenta growth factor knock-out mice. *Respir Res.* 2009;10:115.
49. Hedlund EM, Hosaka K, Zhong Z, Cao R, Cao Y. Malignant cell-derived PlGF promotes normalization and remodeling of the tumor vasculature. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106(41):17505-10.
50. Loges S, Schmidt T, Carmeliet P. Antimyeloangiogenic therapy for cancer by inhibiting PLGF. *Clin Cancer Res.* 2009;15(11):3648-53.



51. Praidou A, Androudi S, Brazitikos P, Karakiulakis G, Papakonstantinou E, Dimitrakos S. Angiogenic growth factors and their inhibitors in diabetic retinopathy. *Curr Diabetes Rev.* 2010;6(5):304-12
52. Shen J, Ordovas JM. Impact of genetic and environmental factors on hsCRP concentrations and response to therapeutic agents. *Clin Chem.* 2009;55(2):256-64.
53. Meyer MH, Hartmann M, Krause HJ, Blankenstein G, Mueller-Chorus B, Oster J, Miethel P, Keusgen M. CRP determination based on a novel magnetic biosensor. *Biosens Bioelectron.* 2007;15;22(6):973-9.
54. Kilpatrick JM, Volanakis JE. Molecular Genetics, Structure and Function of C-Reactive Protein. *Immunol Res* 1991;10:43-53
55. Kiliturgay K: İmmünoloji, Bursa, Güneş-Nobel Kitabevleri,1997; 20-21: 1221-27
56. Kushner I, Ribich VK, Blair JB: Control of the acute phase response C-reactive protein synthesis by isolated perfused rabbit livers. *J Lab Clin Med.* 1980; 91: 1037
57. Duclos T. Function of C-reactive protein. *Ann Med.* 2000; 32:274-278
58. Ridker PM, Silvertown JD. Inflammation, C-reactive protein, and atherothrombosis. *J Periodontol.* 2008 Aug;79(8 Suppl):1544-51.
59. Wu SH, Yin PL, Zhang YM, Tao HX. Reversed changes of lipoxin A4 and leukotrienes in children with asthma in different severity degree. *Pediatr Pulmonol.* 2010 Apr;45(4):333-40.
60. Soferman R, Glatstein M, Sivan Y, Weisman Y. HsCRP levels: measurement of airway inflammation in asthmatic children. *Pediatr Int.* 2008 Feb;50(1):12-6.
61. R.M. Tuder, Jeong H. Yun, Vascular Endothelial Growth Factor The Lung: Friend Or Foe *Curr Opin Pharmacol.* 2008; 8(3): 255–60.
62. Ayyareci C, Tigin C, Koşar F, Altın S, Kıyık M, Çıkrıkçıoğlu S, Yılmazbayhan D, Hafif- orta derecede astımlıların 4 aylık inhale steroid tedavi öncesi ve sonrası bronş biyopsilerinin immunohistopatolojik değerlendirmesi, *Solunum* 2005; Vol: 7 Sayı: 3 ;97-102
63. Faul J L, Demers E.A, Burke C.M, Poulter L W, Alterations in Airway Inflammation and Lung Function During Corticosteroid Therapy for Atopic Asthma *Chest* 2002;121;1414-20.
64. Kanazawa H, Yoshikawa T,Hirata K, Yoshikawa J,Effects of Pranlukast Administration on Vascular Endothelial Growth Factor Levels in Asthmatic Patients, *Chest* 2004;125;1700-5.

65. Kanazawa H, Eguchi Y, Nomura N, Yoshikawa J. Analysis of vascular endothelial growth factor levels in induced sputum samples from patients with cough variant asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2005; 95:266-71
66. Carmeliet P. Angiogenesis in health and disease. *Nat Med* 2003; 9: 653-60
67. Ellis LM, Takahashi Y, Liu W, Shaheen RM. Vascular endothelial growth factor in human colon cancer: Biology and therapeutic implications. *The Oncologist* 2000; 5:11-5.
68. Tae K, El-Naggar AK, Yoo E, et al. Expression of vascular endothelial growth factor and microvessel density in head and neck tumorigenesis. *Clinical Cancer Research* 2000; 6: 2821-8.
69. Bamberger ES, Perrett CW. Angiogenesis in epithelial ovarian cancer. *Mol Pathol* 2002; 55: 348-59.
70. Bellamy WT, Richter L, Frutiger Y, Grogan TM. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in hematopoietic malignancies. *Cancer Research* 1999; 59: 728-33
71. Kishiro I, Kato S, Fuse D, et al. Clinical significance of vascular endothelial growth factor in patients with primary lung cancer. *Respirology* 2000; 7: 93-8.
72. Baillie R, Carlile J, Pendleton N, Schor AM. Prognostic value of vascularity and vascular endothelial growth factor expression in non-small cell lung cancer. *J Clin Pathol* 2001; 54: 116-20.
73. Nakashima T, Huang CI, Liu D, et al. Expression of vascular endothelial growth factor-A and vascular endothelial growth factor-C as prognostic factors for non-small cell lung cancer. *Med Sci Monit* 2004; 10: 157-65.
74. Bhatt AJ, Amin SB, Chess PR, Watkins RH, Maniscalco WM. Expression of vascular endothelial growth factor and flk-1 in developing and glucocorticoid-treated mouse lung. *Pediatr Res* 2000; 47: 606-13.
75. Zeng X, Wert SE, Federici R, Peters KG, Whitsett JA. VEGF enhances pulmonary vasculogenesis and disrupts lung morphogenesis in vivo. *Dev Dyn* 1998; 211: 215-27.
76. Boussat S, Eddahibi S, Coste A, et al. Expression and regulation of vascular endothelial growth factor in human pulmonary epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000; 279: 371-8
77. Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW, Rudge JS, Wiegand SJ, Holash J. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature* 2000; 407: 242-8

78. Podar K, Anderson KC. The pathophysiologic role of VEGF in hematologic malignancies: therapeutic implications. *Blood* 2005;105:1383-95
79. Feltis BN, Wignarajah D, Reid DW, Ward C, Harding R, Walters EH. Effects of inhaled fluticasone on angiogenesis and vascular endothelial growth factor in asthma. *Thorax*. 2007;62(4):314-9.
80. Feng HY, Lu AZ, Zhang XB, Wang LB, Chen C. [Effects of prolonged exposure of high concentration of oxygen on expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in neonatal rat lungs]. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi*. 2009 Nov;11(11):927-30.
81. Lee JH, Choi S, Lee Y, Lee HJ, Kim KH, Ahn KS, Bae H, Lee HJ, Lee EO, Ahn KS, Ryu SY, Lü J, Kim SH. Herbal compound farnesiferol C exerts antiangiogenic and antitumor activity and targets multiple aspects of VEGFR1 (Flt1) or VEGFR2 (Flk1) signaling cascades. *Mol Cancer Ther*. 2010;9(2):389-99.
82. Detoraki A, Staiano RI, Granata F, Giannattasio G, Prevete N, de Paulis A, Ribatti D, Genovese A, Triggiani M, Marone G. Vascular endothelial growth factors synthesized by human lung mast cells exert angiogenic effects. *J Allergy Clin Immunol*. 2009 May;123(5):1142-9.
83. Feltis BN, Wignarajah D, Zheng L, Ward C, Reid D, Harding R, Walters EH. Increased vascular endothelial growth factor and receptors: relationship to angiogenesis in asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;173(11):1201-7.
84. Verhaeghe C, Tabruyn SP, Oury C, Bours V, Griffioen AW. Intrinsic pro-angiogenic status of cystic fibrosis airway epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2007;356(3):745-9.
85. Cheng SL, Wang HC, Yu CJ, Yang PC. Increased expression of placenta growth factor in COPD. *Thorax*. 2008;63(6):500-6.
86. Erten G, Müsellim B, Tutluoğlu B, Gemicioğlu B, Deniz G, Peripheral Blood Lymphocyte Activation And RANTES Levels İn Asthma *Turk J Med Sci* 2008; 38 (6): 531-536
87. Zhang Q, Qian FH, Liu H, Zhou LF, Huang M, Zhang XL, Yin KS. Expression of surface markers on peripheral CD4+CD25high T cells in patients with atopic asthma: role of inhaled corticosteroid. *Chin Med J (Engl)*. 2008;121(3):205-12.
88. Gemicioğlu B, Yıldırım N, Gürel N, Adın S, Badur S, Allerjik ve allerjik olmayan bronş astmasında lenfosit altgrupları ve aktivasyon belirleyicileri *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 1998; 29:89-94.

89. Azzawi M, Bradley B, Jeffery PK. Identification of activated T lymphocytes and eosinophils in bronchial biopsies in stable atopic asthma. *Am Rev Respir Dis* 1990;142:1407-13
90. Synek M, Beasley R, Frew AJ, Goulding D, Holloway L, Lampe C, Roche WR, Holgate ST. Cellular infiltration of the airways in asthma of varying severity. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:224-30
91. Richmond I, Booth H, Ward C, Walters EH. Intrasubject variability in airway inflammation in biopsies in mild to moderate stable asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 899-903
92. Walker C, Bode E, Boer L. Allergic and nonallergic asthmatics have distinct pattern of T cell activation and cytokine production. *Am Rev Respir Dis* 1992;146:109-15
93. Bentley AM, Menz G, Stoz C, Robinson DS, Bradley B, Jeffery PK, Durham SR, Kay AB. Identification of T lymphocytes, macrophages and activated eosinophils in the bronchial mucosa in intrinsic asthma. *Am Rev Respir Dis* 1992;146:500-506
94. Baric I, Reinen-Banovac Z, Verona E. T cell subset in asthmatic children. *Acta Med* 1993;47:119-22.
95. Busse WW, Coffman RL, Gelfand EW, Kay AB, Rosenwasser LJ. Mechanism of persistent airway inflammation in asthma. A role for T cells and T cell products. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152:388-393
96. Frankel DJ, Holgate ST. Asthma. In: *Allergy, Asthma, and Immunology from Infancy to Adulthood*. CW Bierman, DS Pearlman, G Shapiro, WW Busse (eds) 3. ed. WB Saunders Comp. Philadelphia, 1996;443-549
97. Corrigan CJ, Haczku A, Gemou-Engesaeth V, Doi S, Kikuchi Y, Takatsu K, Durham SR, Kay AB. CD4 T-lymphocyte activation in asthma is accompanied by increased serum concentrations of interleukin-5. Effect of glucocorticoid therapy. *Am Rev Respir Dis*. 1993 Mar;147(3):540-7.
98. Metzger WJ, Zavala D, Richerson HB. Local allergen challenge and bronchoalveolar lavage of allergic-asthmatic lungs. *Am Rev Respir Dis* 1987;135:433-40
99. Xu YQ, Gao YD, Yang J, Guo W. A defect of CD4+CD25+ regulatory T cells in inducing interleukin-10 production from CD4+ T cells under CD46 costimulation in asthma patients. *J Asthma*. 2010;47(4):367-73.

100. Wei W, Liu Y, Wang Y, Zhao Y, He J, Li X, Shen K. Induction of CD4CD25(+)Foxp3(+)IL-10(+) T Cells in HDM-Allergic Asthmatic Children with or without SIT. *Int Arch Allergy Immunol*. 2010;153(1):19-26.
101. Moniuszko M, Bodzenta-Lukaszyk A, Dabrowska M, Effects of Oral Glucocorticoid Therapy on CD4+CD25+CD127- and CD4+CD25high T Cell Levels in Asthmatic Patients. *Inflammation*. 2010; 10,1007/s10753;9200-9.
102. Todo-Bom A, Mota Pinto A, Alves V, Vale Pereira S, Santos Rosa M. Apoptosis and asthma in the elderly. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2007;17(2):107-12.
103. Nguyen KD, Vanichsarn C, Fohner A, Nadeau KC. Selective deregulation in chemokine signaling pathways of CD4+CD25(hi)CD127(lo)/(-) regulatory T cells in human allergic asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2009 Apr;123(4):933-9.
104. Corrigan CJ, Kay AB. CD4 T-lymphocyte activation in acute severe asthma. Relationship to disease severity and atopic status. *Am Rev Respir Dis*. 1990;141:970-977
105. Barnes PJ, Adcock IM. How do corticosteroides work in asthma? *Ann Intern Med*. 2003;139:359-70.
106. Melis M, Siena L, Pace E, Gjomarkaj M, Profi ta M, Pirazzoli A, Todaro M, Stassi G, Bonsignore G, Vignola AM. Fluticasone induces apoptosis in peripheral T-lymphocytes: a comparison between asthmatic and normal subjects. *Eur Respir J*. 2002;19:257-266.
107. Ying S, Khan LN, Meng Q, Barnes NC, Kay AB. Cyclosporin A, apoptosis of BAL T-cells and expression of Bcl-2 in asthmatics. *Eur Respir J*. 2003;22:207-212.
108. Jayaraman S, Castro M, O'Sullivan M, Bragdon MJ, Holtzman MJ. Resistance to Fas-Mediated T Cell Apoptosis in Asthma. *J Immunol*. 1999;162:1717-1722
109. Beverly PCL, Merckenschlager M, Terry L. Phenotypic diversity of the CD45 antigen and its relationship to function. *Immunol* 1988; 88: 3-5
110. Schmekel B, Venge P. Markers for eosinophils and T lymphocytes as predictors of late asthmatic response. *Allergy* 1993;48:94-97
111. Machura E, Mazur B, Pieniasek W, Karczewska K. Expression of naive/memory (CD45RA/CD45RO) markers by peripheral blood CD4+ and CD8 + T cells in children with asthma. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2008;56(1):55-62.