

**T.C.**

**CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**

**Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı**

**Pediyatrik Alerji Bilim Dalı ve Solunum Birimi**

**ATOPIK DİFERANSİYASYONDA TH-17 VE IL-17' NİN ROLÜ**

**PEDİYATRİK ALERJİ YAN DAL UZMANLIK TEZİ**

**Uzman Dr. Ayhan SÖĞÜT**

**TEZ DANIŞMANI**

**Doç. Dr. Hasan YÜKSEL**

**Manisa - 2009**

# İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ .....	IV
KISALTMALAR .....	V
TABLO VE ŞEKİL DİZİNİ .....	VI
I. GİRİŞ .....	1
II. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Alerjik rinit .....	2
2.1.1. Tanım.....	2
2.1.2. Sınıflandırma.....	2
2.1.3. Epidemiyoloji.....	2
2.1.4. Etiyoloji .....	2
2.2. Atopi ve risk faktörleri.....	4
2.3. Alerjik rinit ve komorbid hastalıklar.....	4
2.3.1. Astım.....	4
2.3.2. Sinüzit .....	5
2.3.3. Konjunktivit.....	5
2.3.4. Adenoid hipertrofi.....	6
2.3.5. Efüzyonlu otitis media .....	6
2.4. Alerjik rinit patogenezinde rol alan hücreler .....	6
2.4.1. Epitel hücresi .....	6
2.4.2. Dendritik hücre.....	7
2.4.3. Mast hücresi.....	7
2.4.4. Bazofil .....	8
2.4.5. Eozinofil .....	8
2.4.6. T Lenfositleri .....	8
2.5. Patogenez.....	14
2.5.1. Alerjik duyarlılaşma ve enflamasyon.....	14
2.6. AlerjikRinitte tanı .....	16
2.6.1. Anamnez ve fizik muayene .....	16
2.6.2. Tanı testleri .....	18
III. AMAÇ.....	23
IV. GEREÇ VE YÖNTEM.....	24

V. BULGULAR .....	32
VI. TARTIŞMA .....	37
VII. SONUÇLAR.....	42
VIII. ÖZET .....	43
IX. İNGİLİZCE ÖZET.....	44
X. KAYNAKLAR.....	45

## ÖNSÖZ

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

Tez çalışmamın başından sonuna kadar her aşamada yardım ve desteğini gördüğüm Sayın Doç. Dr. Cengiz Kırmaz' a

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

Tezi hazırlamamda aktif olarak yardım eden, bana destek olan, yoğun çalışma temposuna rağmen nazal biyopsi örneklerinin boyanması ve değerlendirilmesini sağlayan Sayın Prof. Dr. Kemal Özbilgin' e

Tezin hazırlanmasında nazal lavaj örneklerinde sitokin çalışmasını yapan Sayın Doç. Dr. Ece Onur' a

Nazal biyopsi örneklerinin alınmasında destek olan Sayın Prof. Dr. Onur Çelik'e ve Uzman Dr. Ercan Pınar' a

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nın tüm öğretim üyelerine, uzman ve araştırma görevlisi arkadaşlarıma

Servis hemşirelerine

Poliklinikte birlikte çalıştığımız, değerli, fedakar ve çalışkan kardeşim sağlık memuru Özgür Kaçmaz' a

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

Dr. Ayhan SÖĞÜT

Manisa -2009

## KISALTMALAR

<b>AR</b>	:	Alerjik rinit
<b>Treg</b>	:	Regulatuar T hücresi
<b>T-bet</b>	:	T-box transcription factor
<b>FOXP3</b>	:	Forkhead box protein 3
<b>ROR<math>\gamma</math></b>	:	Retinoid orphan receptor gama
<b>IL</b>	:	İnterlökin
<b>AK</b>	:	Alerjik konjunktivit
<b>EOM</b>	:	Efüzyonlu otitis media
<b>MHC</b>	:	Major histokompatibilite kompleks
<b>ASH</b>	:	Antijen sunan hücre
<b>DH</b>	:	Dentritik hücre
<b>MH</b>	:	Mast hücresi
<b>TH</b>	:	T helper
<b>THR</b>	:	T hücre reseptörü
<b>TH1</b>	:	T helper 1
<b>TH2</b>	:	T helper 2
<b>TH17</b>	:	T helper17
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	:	İnterferon gama
<b>NK</b>	:	Natural killer
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	:	Transforming growTH factor- $\beta$
<b>Tr1</b>	:	Tip 1 regulatuar T hücresi
<b>PG</b>	:	Prostoglandin
<b>LT</b>	:	Lökotrien
<b>VCAM</b>	:	Vascular cell adhesion molecule
<b>ELISA</b>	:	Enzyme linked immunoassay analysis

## TABLO VE ŞEKİL DİZİNİ

<b>Tablo 1:</b> Alerjik rinitin sınıflandırması .....	3
<b>Tablo 2:</b> Alerjik rinitin belirti ve bulguları .....	17
<b>Tablo 3:</b> Alerji tanısında kullanılan deri testleri ile serum spesifik IgE karşılaştırılması .....	19
<b>Tablo 4:</b> Çalışma grundaki olguların sitokin düzeyleri .....	32
<b>Tablo 5:</b> İmmünohistokimyasal teknik ile boyanan nazal doku örneklerinden elde edilen HSCORE değerleri .....	34
<b>Şekil 1:</b> Alerjide T hücre fenotipleri .....	9
<b>Şekil 2:</b> T hücre diferansiasyonu sırasında transkripsiyon faktörlerindeki pozitif feedback loop'ları .....	13
<b>Şekil 3:</b> Alerjik yanıtta TH1/TH2 imbalansı.....	14
<b>Şekil 4:</b> Primer alerjen duyarlaşma .....	15
<b>Şekil 5:</b> Hasta ve kontrol grubundaki IFN- $\gamma$ düzeyleri .....	33
<b>Şekil 6:</b> Hasta ve kontrol grubundaki IFN- $\gamma$ /IL-4 oranı .....	33
<b>Şekil 7:</b> Hasta ve kontrol grubundaki T-bet pozitif hücreler.....	35
<b>Şekil 8:</b> Hasta ve kontrol grubundaki FOXP3 pozitif hücreler .....	35
<b>Şekil 9:</b> Hasta ve kontrol grubundaki T-bet <sup>+</sup> hücre/GATA-3 <sup>+</sup> hücre oranı.....	36
<b>Şekil 10:</b> Hasta ve kontrol grubundaki FOXP3 <sup>+</sup> hücre/GATA-3 <sup>+</sup> hücre oranı.....	36

# I. GİRİŞ

Alerjik rinit (AR), nazal mukozanın alerjenle teması ile oluşan IgE aracılı enflamasyonun neden olduğu en sık solunum yolu alerjik hastalığıdır (1). Alerjenin indüklediği atopik reaksiyonlarda TH2 ağırlıklı immün yanıt söz konusudur (2). Ancak atopik hastalıklarda TH1, regülatuar T (Treg) ve TH17 hücreleri de rol oynamaktadır (3). Naive T hücrelerinden farklı T hücre alt gruplarının diferansiasyonu ortamdaki sitokin türüne bağlı olup, TH1 için T-box transcription factor (T-bet), TH2 için GATA-3, ve Treg için forkhead box protein 3 (FOXP3) transkripsiyon faktörleri tanımlanmıştır (4,5,6). İnsanda TH17 için tanımlanan transkripsiyon faktörü retinoid orphan receptor  $\gamma$ t (ROR $\gamma$ t)' dir (7). GATA-3 eksprese eden hücreler AR' li hastaların mukozasında bildirilmiştir (8) Deneysel hayvan modellerinde, T-bet eksikliği olan farelerde astıma ait enflamatuvar özellikler gözlenmiştir (9). Treg hücreleri gerek TH1 gerekse de TH2 ağırlıklı immün yanıtı suprese eder (10). Xu ve ark. tarafından AR'li hastaların nazal dokularında FOXP3 (+) lenfosit sayısının ve FOXP3 mRNA ekspresyonunun azaldığı bulunmuştur (11). Ayrıca polen mevsimi öncesi AR'li hastaların nazal dokularında sağlıklı kontrollere göre FOXP3 ve GATA-3 hücre sayısının arttığı, T-bet hücre sayısının ise değişmediği bulunmuştur. Aynı hastalarda, polen mevsimindeki FOXP3 ve T-bet hücre sayısı polen mevsimi öncesine göre değişmezken, GATA-3 sayısı anlamlı artış göstermiştir (12).

İnterlökin-17 (IL-17) üreten TH17 hücreleri TH1, TH2 ve Treg hücrelerinden farklı yeni bir efektör T hücre alt grubudur. Deneysel hayvan modellerinde, TH17 hücrelerinin akut havayolu enflamasyonunda nötrofilik enflamasyon için önemli olabildiği ileri sürülmüştür (13). Balgam IL-17 mRNA'sının kemoatraktanlar ve nötrofil sayısı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (14). Ayrıca, IL-17' nin insan havayolu düz kas ve epitel hücrelerindeki kemoatraktanları indüklediği ileri sürülmüştür (15,16). Son zamanlarda yapılan bir çalışmada astımlı hastaların serumlarında IL-17 düzeyinin sağlıklı kontrol grubu ile aynı olduğu bulunmuştur (17). Başka bir çalışmada ise kayın ağacı (birch) polen alerjisi olan AR' li hastalarda, polen mevsimi dışında IL-17 düzeyinin arttığı gösterilmiştir (18).

TH17 hücrelerinin alerjik hastalıklardaki rolü tam olarak belli değildir. Bu çalışmada bizim amacımız, atopik diferansiasyonda TH17 ve IL-17' nin rolünü incelemektir.

## II. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Alerjik rinit

#### 2.1.1. Tanım

AR, alerjen maruziyeti sonrasında burnu döşeyen membranların IgE aracılı yangısal hastalığıdır (19). İlk kez 1929 yılında tanımlanmıştır (20). Burundaki alerjik reaksiyonlara bağlı olarak gelişen temel semptomlar; burun tıkanıklığı, akıntı, kaşıntı ve hapşırıktır (21).

#### 2.1.2. Sınıflandırma

Klasik olarak perennial (yıl boyu süren) ve mevsimsel (polenler ve dış ortam küflerinin neden olduğu) AR şeklinde sınıflandırılır (22). Ancak güncel sınıflaması semptom sıklığı (intermittant ya da persistan) ve semptom şiddeti (hafif, orta, şiddetli) göz önüne alınarak yapılmaktadır (Tablo 1) (19).

#### 2.1.3. Epidemiyoloji

AR prevalansı %15-20 arasında değişmektedir (23). Pediatrik yaş grubunda Doktor tanılı AR prevalansının %42 olduğu bildirilmektedir (24). Büyük çocuklarda görülme sıklığı küçük çocuklardan daha fazladır ve çocuklarda 13-14 yaşlarında peak yapar. AR tanısı almış olan kişilerin yaklaşık %80'inde 20 yaşından önce semptom görülür (25). AR ergenlikten önce erkeklerde daha sık görülürken ergenlikte kızlarda daha sık ortaya çıkar, erişkin dönemde kız erkek oranı aynıdır (26).

#### 2.1.4. Etyoloji

AR' in gelişebilmesi için bir allerjene karşı atopik bir duyarlılık ve duyarlılaşan kişinin o alerjenle karşılaşması gerekir. İnhalan allerjenler AR' in temel nedenini oluşturmaktadır. AR' lerin yaklaşık olarak %20' si mevsimsel, %40' ı perenniyal, %40'ı ise perenniyal olup mevsimsel ataklarla seyreden miks tiptir (27). Mevsimsel AR' in etyolojisinde polenler ve küf mantarı sporları öncelikli olarak düşünülmelidir. Ağaç polenleri baharda, çayır polenleri erken yaz aylarında, ot polenleri geç yaz aylarında en sık etkindir. Mantar sporları ise ılıman iklimlerde dış havada sadece yaz aylarında, sıcak iklimlerde ise yıl boyunca AR ataklarına sebep olabilirler (27).



Perenniyal AR ise çoğunlukla hayvanların deri döküntüleri, ev tozu, hamamböcekleri ve iç ortam küfleri gibi ev içi allerjenlerle ilgilidir.

**Tablo 1.** Allergic Rhinitis and Its Impact on Asthma (ARIA) rehberlerine göre hazırlanmış Alerjik Rinit sınıflandırması

Semptom	Semptom süresi
<b>Hafif aralıklı</b>	$\leq 4$ gün / hafta VEYA $\leq 4$ hafta
Normal uyku	
Normal spor, günlük aktiviteler ve eğlence	
Normal okul ve iş hayatı	
Sıkıntı verici semptom yok	
<b>Hafif devamlı</b>	$> 4$ gün / hafta VE $> 4$ hafta
Normal uyku	
Normal spor, günlük aktiviteler ve eğlence	
Normal okul ve iş hayatı	
Sıkıntı verici semptom yok	
<b>Orta-şiddette aralıklı</b>	
<i>Bir ya daha fazla başlık:</i>	$\leq 4$ gün / hafta VEYA $\leq 4$ hafta
Anormal uyku	
Günlük aktivite, spor ve eğlencenin kesintiye uğraması	
Okul veya iş hayatında sorunlar	
Sıkıntı verici semptomlar	
<b>Orta-şiddette devamlı</b>	
<i>Bir ya daha fazla başlık:</i>	$> 4$ gün / hafta VE $> 4$ hafta
Anormal uyku	
Günlük aktivite, spor ve eğlencenin kesintiye uğraması	
Okul veya iş hayatında sorunlar	
Sıkıntı verici semptomlar	

## **2.2. Atopi ve Risk faktörleri**

Atopi, yaygın çevresel alerjenlere karşı aşırı miktarda IgE üretilmesidir. Atopi ile ilişkili olduğu varsayılan gen grupları 2., 5., 6., 7., 11., 13., 16. ve 20. kromozomlar üzerindeki lokuslarda yerleşmiştir (28). Pozitif aile öyküsü AR için majör risk faktörüdür (29). Toplumun geneline bakıldığında çocukların %10-15' i atopik bünyeye sahiptir. Her iki ebeveyn atopik olduğunda bu oran %50' ye çıkar. Her iki ebeveyn aynı atopik belirtiler gösteriyorsa bu oran %72' ye çıkar (30). AR için diğer risk faktörleri arasında yüksek sosyoekonomik sınıf, hava kirliliği, polen mevsiminde doğmuş olmak, ailenin ilk çocuğu olmak, kreşe geç başlamak, yaşamın ilk yılında annenin sigara içmesi, ev tozu ve hayvanların deri döküntüleri gibi ev içi alerjenlere maruziyet, yüksek serum IgE düzeyleri (6 yaşından önce 100 IU/mL' nin üzerinde), pozitif deri prik testi, ek besinlere ve formülasyona erken başlamak sayılabilir (29).

## **2.3. Alerjik rinit ve komorbid hastalıklar**

AR izole lokal bir hastalık olmayıp, sistemik yangısal sürecin bir parçasıdır ve astım, rinosinüzit, efüzyonlu otitis media ve alerjik konjunktivit gibi solunum sistemi muköz membranlarını etkileyen diğer yangısal hastalıklar ile yakından ilişkilidir.

### **2.3.1. Astım**

Epidemiyolojik veriler de astım ve rinit birlikteliğini desteklemektedir. Burun semptomlarının astımlı hasta popülasyonunun %80' inde görülebildiği bildirilmektedir (31). Astmatik alerjik adolesanlarda bu oran %93'e kadar çıkmaktadır. Diğer taraftan AR'li erişkinlerin %22.5' inde, genel popülasyonun ise %7.2' sinde astım mevcuttur (32). Çocuklarda AR' li astımlıların oranı AR' li olmayan astımlılardan daha fazladır (33). Bu epidemiyolojik ilişki alt ve üst havayollarının potansiyel birlikteliğinin daha ileri analiz edilmesine neden olmuştur. Bir çalışmada, segmental endobronşiyal alerjen uyarısı sağlıklı kontrol grubunda olmadığı halde, AR'li hastalarda pulmoner ve nazal fonksiyonda azalmaya ilaveten nazal ve bronşiyal semptomların gelişmesine neden olmuştur (34). Buna karşılık, AR' li hastalarda nazal alerjen uyarısı periferik kanda eozinofil sayısının ve adezyon moleküllerinin artması ile nazal ve bronşiyal havayolu yangısının artmasına yol açmıştır (35).

### **2.3.2. Sinüzit**

Epidemiyolojik veriler sinüslerin hastalığı ile AR arasındaki bağlantıyı desteklemektedir. Yapılan çalışmalarda, akut sinüzitli olguların %25-30' unda, tek taraflı kronik sinüzitli olguların %40-67' sinde ve kronik bilateral sinüzitli olguların %80' inde AR bildirilmiştir. Akut rinosinüzitte sinüzite yol açan mekanizma; nazal kavite ile sinüsleri birleştiren ostiumun tıkanıklığı ve nazal konjesyona neden olan nazal yangıdır. Sinüs kavitesinin mukozasının ventilasyonundaki azalma siliyer disfonksiyonuna, transüda özelliğindeki sıvı birikimine ve mukus artışına ve sonuçta bakterilerin çoğalmasına neden olur. Kronik rinosinüzit, sıklıkla multiple etkenlere bağlı olan ve farklı fenotipler gösteren yangısal bir bozukluktur. Kronik rinosinüzitin en sık karşılaşılan iki formu ya eozinofilik ya da nötrofilik infiltrasyon gösterir (36).

### **2.3.3. Konjunktivit**

Alerjik konjunktivit (AK) gözlerde kaşıntı, şişlik ve akıntı ile karakterizedir. Göz semptomları özellikle polen ya da hayvan tüylerine duyarlı olan AR' lilerde daha yaygındır. Perennial AK, mevsimsel AK'den sonra AK' in en sık ikinci ciddi formudur. AK'in atopik popülasyonda yaygın olarak görülen iki ciddi formu da "vernal ve atopik keratokonjunktivit" akılda tutulmalıdır (37). Bu atopik göz hastalıkları potansiyel olarak görmeyi etkileyebilir ve Göz Hekimi ile işbirliği yapılarak tedavi edilmelidir. Vernal keratokonjunktivit, konjunktivanın kronik yangısı ile karakterizedir. Sıklıkla çocuklarda, adolesanlarda ve erkelerde görülür. Genellikle erken erişkin dönemde iyileşir. Semptomları kaşıntı, kalın mukus ve fotofobidir. Korneada erozyon olursa görme bozulabilir. Muayenede koyu mukoid akıntı ve tarsal konjunktiva üzerinde dev papillalar görülür. Atopik keratokonjunktivit; konjunktiva ve korneanın yangısal değişikliği olarak ortaya çıkar. Gözlerde kaşıntı, yanma, sulanma ve fotofobiye neden olur. Genellikle eş zamanlı olarak göz kapaklarında ekzema da vardır. Muayenede göz kapaklarını döşeyen konjunktivada -özellikle alt göz kapağında- şişlik ve kırmızılık vardır. Tedavi edilmezse ülserasyon, skarlaşma, katarakt, keratokonus ve korneal damarlaşmaya neden olur. Sekonder enfeksiyonlar seyrekir.

### **2.3.4. Adenoid hipertrofi**

Adenoid, Waldeyer halkasına dahil olan, hayatın erken dönemlerinde solunan mikroorganizmalara karşı bağışıklığın gelişimine katkıda bulunan ve nazofarenkste yer alan periferik lenfoid bir organdır (38). Mantar gibi mikrobiyal uyarılar ya da sigara gibi iritanlar adenoid dokuda genişlemeye neden olmaktadır (39). Adenoid hipertrofinin neden olduğu semptomlar arasında rinolali, ağız açık soluma, horlama ve adenoid yüz görünümü sayılabilir. Çocuklarda, hem alerjik rinit hem de adenoid hipertrofi benzer semptomlar verebilir. İnhalan alerjenlere karşı duyarlılığın adenoid dokunun immünolojisini değiştirdiği bildirilmektedir. Benzer şekilde, eozinofiller, IL-4 ve IL-5 mRNA-pozitif hücreler atopik çocukların adenoidlerinde artmaktadır (40). Aynı zamanda, atopi adenoidlerde IgE-pozitif hücrelerin artışı ile ilişkilidir (41). Atopi ile adenoid hipertrofinin derecesi arasında bir ilişki gözlenmiştir (42).

### **2.3.5. Efüzyonlu otitis media**

Efüzyonlu otitis media (EOM) orta kulak mukozasının yangısal bir hastalığıdır. Çocuklarda hala önemli bir sorundur. Üç yaşına kadar çocukların %80' inin en az bir kez EOM geçirdiği ve %40' ının da gelecekte 3 ya da daha fazla EOM geçireceği ileri sürülmektedir (43). Burun ve orta kulak devamlılık gösteren bir organ sistemidir. Her iki boşluk solunum mukozası ile döşenmiş olup, Eustachi tüpü ile birbiriyle bağlantılıdır. Burundaki enfeksiyon, tıkanıklık ya da yangısal bir sürecin mi otitis mediaya neden olduğu kesin olarak anlaşılmamıştır. Alerjik yangıya neden olan hücre ve mediatörler EOM'lı hastaların orta kulak sıvısında saptanmıştır (44). EOM' lı atopik hastaların orta kulak sıvısı atopik olmayanlarla karşılaştırıldığında çok sayıda eozinofil, IL-4, ve IL-5 mRNA pozitif hücreler görülmüştür (45). Bu durum EOM' da alerjik yangının rolünü düşündürmektedir. IgE duyarlılığı ve solunum alerji semptomları EOM gelişimi için bağımsız risk faktörleridir (46).

## **2.4. AR patogenezinde rol alan hücreler**

### **2.4.1. Epitel hücresi**

Solunum yolu epiteli antijen-spesifik immün yanıtta önemli rol oynar. Epitel hücreleri majör histokompatibilite kompleks (MHC) klas I ve klas II yüzey

ekspresyonunu gösterirler (47). Klas I ekspresyonu viral enfeksiyonlarla artarken, klas II MHC epitelyum ekspresyonu AR ve astımlı hastalarda artmaktadır (48). Havayolu epitel hücrelerinin, T hücre efektör cevaplarının aktivasyon ve yönlendirilmesi için gerekli olan CD80 ve CD86 gibi eş-uyaran molekülleri eksprese ettiği gösterilmiştir (49). Epitel hücreleri T hücre sinyalini ve proliferasyonunu başlatabilir (50).

### 2.4.2. Dendritik hücre

Profesyonel antijen sunan hücrelerin (ASH) prototipi dendritik hücrelerdir. Dendritik hücrelerin (DH) kemik iliğindeki prekürsörlerden büyüme ve gelişmesi için granülosit makrofaj koloni stimulan faktör, IL-1, IL-3, IL-4 ve Tümör nekrozis faktöre gereksinim duyarlar. DH'ler; CD4<sup>+</sup> lenfositleri TH1 yönünde indükleyebilen tip 1 DH'ler ve TH2 yönünde indükleyebilen tip 2 DH'ler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Ortamda IL-12 varsa tip 1 DH, prostoglandin E2 varsa tip 2 DH gelişir. Bu hücreler burun ve sinüsler dahil havayollarında yer alır ve derideki Langerhans hücrelerinin eşdeğeridirler. Alerjen tanınmasında önemli role sahiptirler. Alerjen ya da antijenin yakalanması ve T hücrelerine sunulmasında önemli role sahiptirler. IL-4 varlığında THelper hücre prekürsörü tip 2 DH ile etkileşirse TH2 diferansiasyonu olur. IL-12 varlığında THelper hücre prekürsörü tip 1 DH ile etkileşirse IFN-gama üreten TH1 diferansiasyonu olur (51). Bu nedenle antijen ya da alerjenlere verilecek immün yanıtta enflamatuvar mediatör ve sitokinlerin türü çok önemlidir.

### 2.4.3. Mast hücresi

Mast hücreleri (MH), alerjik hastalığın iyi bilinen efektörleridir. İnsan MH'leri CD34<sup>+</sup> pluripotent kök hücrelerinden kaynak alır. MH prekürsörleri kanda ve lenfatiklerde dolaşır. Dokudaki MH'lerinin maturasyonu, survival ve biyolojik ekspresyonu IL-4, IL-5 ve IFN-gama gibi sitokinlerden etkilenebilir. IL-5 MH proliferasyonuna yol açarken, IFN-gama MH membranında yer alan FcεRI' i artırır. IL-4 diğer sitokinlerin (örneğin IL-6 gibi) varlığında MH proliferasyonunu artırır ve apoptozisi indükler (52).

Duyarlı kişilerde, nazal alerjen uyarısı ile erken fazda MH'leri degranüle olurken, eozinofiller ve bazofiller geç faz cevabının birincil efektör hücreleridir. Enflamasyonun erken fazında β-tryptase, histamin ve PGD<sub>2</sub> artarken, histamin geç

faz yanıtında da artmaktadır (53). Astımda olduğu gibi, mevsimsel AR'de de yakınmaların görüldüğü mevsimde  $\beta$ -tryptase düzeyleri yükseldiği için MH degranülasyonu önemli bir süreçtir (54). MH, aktif mevsimsel AR sırasında epitelde ve yüzeysel nazal mukozada sayıca artış gösterir (55).

#### **2.4.4. Bazofil**

Bazofiller, yüksek afiniteli IgE reseptör (Fc $\epsilon$ RI) ekspresyonu, metakromatik boyanma, TH2 sitokin ekspresyonu ve histamin salınımı gibi birçok benzer özelliği paylaştığı mast hücrelerinden farklı olan granüositlerdir (52). Periferik kan lökositlerinin %1' inden daha azını oluşturur. Bazofiller CD34+ pluripotent kök hücrelerinden köken alır. Kemik iliğinde diferansiye olur, matür hale geldikten sonra dolaşıma geçer. Bazofil diferansiyasyonunda başlıca rol alan sitokin IL-3' tür (56).

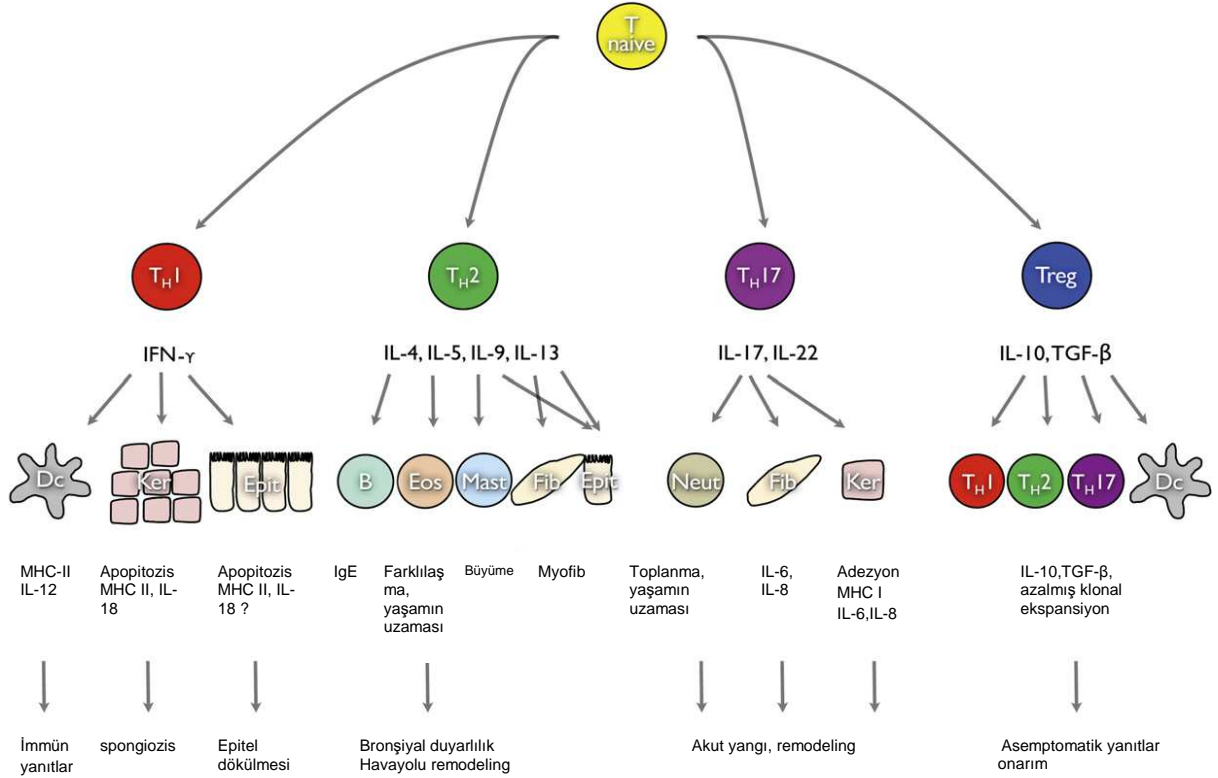
#### **2.4.5. Eozinofil**

Eozinofiller kemik iliğindeki CD34+ progenitor hücrelerden gelişir ve matür hale gelir, daha sonra dolaşıma salınır. Eozinofil diferansiyasyonunda majör rol alan sitokin IL-5' tir (57). Periferik kan eozinofil sayısı alerjik hastalıkta, astımda, helmint enfeksiyonlarında artar ve bu hastalıklardaki enflamasyon bölgelerinde sıklıkla doku eozinofilisi bulunur (58). Alerjik hastalıklar ve astımda eozinofiller proenflamatuvar bir rol oynar. Major basic protein gibi eozinofil mediatörlerinin mukozal enflamasyona ve bronşial aşırı duyarlılığa neden olduğu düşünülmektedir (57).

#### **2.4.6. T lenfositleri**

T lenfositlerinin iki sınıfı olan CD4+ T lenfositleri ve CD8+ T lenfositleri edinsel immün cevapları oluştururlar. Hücre yüzey eş-reseptörünün ekspresyonu ve farklı MHC molekülleri ile etkileşimleri ve farklı fonksiyon göstermeleri sayesinde ayırt edilirler. CD4+ T hücreleri geleneksel olarak T helper (TH) hücreleri olarak adlandırılır (59). İlk olarak 2 T hücre alt grubu tanımlanmıştır : gecikmiş tip aşırı duyarlılıkta rol alan ve IFN- $\gamma$  salınımı yapan TH1 hücreleri ve humoral immün yanıtta aracılık eden IL-4, IL-5, IL-9 ve IL-13 salınımı yapan TH2 hücreleri. Her iki hücre tipi için IL-2 ekspresyonu ortaktır. Hem TH1 hem de TH2 hücreleri naive T hücrelerinden köken

alır. İlk antijen teması ile IL-12 ya da IFN- $\gamma$  ya da IL-4 immün yanıtı indüklendiği zaman, naive T hücreleri TH1 ya da TH2 hücreleri şeklinde polarize olur (Şekil 3) (60).



**Şekil 1.** Alerjide T hücre fenotipleri. (Ker: keratinositler, Epit: epitel hücreleri, Eo: eozinofiller, Mas: mast hücreleri, Fib: fibroblastlar, Dc: dentritik hücreler, Neu: nötrofiller, Myofib: myofibroblast )

T hücre fenotiplerinin polarizasyonu IL-4' ün IFN- $\gamma$ ' nın ekspresyonunu inhibe ettiği ve tersinin de olabildiği bir çapraz düzenlemeden oluşur (61). TH1' in işleme, IL-12 reseptörünü idame ettirecek IFN- $\gamma$ ' nın açığa çıkmasını gerektirir. IL-4 ise IL-12 reseptör  $\beta$ -2' yi inhibe eder. Bu özel mekanizma transkripsiyonel regülasyon mekanizmaları tarafından da gösterilmiştir. TH1 yolağının transkripsiyon faktörü Tbet, TH2 yolağının transkripsiyon faktörü GATA-3 ile fiziksel olarak etkileşir ve onu

inhibe eder (62). Genetik yatkınlığa göre, bölünen hücreler prensip olarak klonal ekspansiyon süreci boyunca polarize olan fenotipe devam eder. TH2 hücreleri, IgM ile IgE yönlenme (switch) reaksiyonu için gerekli olan IL-4 ve CD40 aracılı etkileşimi sağlayarak, IgE indüksiyonu için kritik öneme sahiptir. Buna karşılık, TH1 hücreleri makrofaj aktivasyonu ve MHC-II' nin indüksiyonu için önemlidir. TH1 ve TH2 hücreleri birbiriyle dengededir. Bu dengenin TH2 baskınlığı nedeniyle bozulması alerjilere neden olmaktadır.

Son yıllarda alerjideki T hücre yanıtının daha iyi anlaşılması IgE ekspresyonunda B hücrelerine yardımcı olan TH2 hücrelerinin kritik önemine ışık tutmuş ve TH2 hücrelerinin IL-5 aracılığıyla eozinofiller, IL-9 aracılığıyla düz kas hücreleri, IL-13 aracılığıyla epitel hücreleri ve keratinositler ve IL-31 aracılığıyla epitel hücreleri gibi diğer hücrelerle etkileştiğini açığa çıkarmıştır (63). TH2 sitokini IL-13 ve Treg hücreleri tarafından eksprese edilen TGF- $\beta$ ' ya atfedilen kronik alerjen maruziyetindeki havayolu remodelingi ile hastalık sürecinde erken dönemde IL-4 ve IL-13 tarafından aracılık edilen alerjenin indüklediği IgE oluşumu arasında geçiş olmaktadır. Bu yüzden, TGF- $\beta$  doku onarımında ekstrasellüler matrix proteinlerinin indüksiyonunda önemli bir role sahiptir. Buna karşılık, yapısal hücrelerde TGF- $\beta$  ekspresyonunu uyaran alerjen inducible TGF- $\beta$  ailesine dahil activin, akut alevlenmeler ile kronik alerjik yangı arasında bir mediatör olabilir (64). Açıkça anlaşılmıştır ki, sadece TH2 değil, aynı zamanda atopik dermatitteki spongioform patolojiye neden olan IFN- $\gamma$ ' nın keratinositlerde hücre ölümünü indüklediği akut lezyonlu derideki gibi TH1 hücreleri de alerjik hastalıkta rol oynayabilir (65). Ayrıca, IL-21' in TH2 sitokinleri ile eş-eksprese ettiği, ancak IgE ekspresyonunu suprese ettiği bildirilmiştir (13).

İlk kez 2000 yılında Infante-Duarte ve ark. tarafından tanımlanan IL-17 üreten TH17 hücreleri hem insanlarda hem de farelerde TH1 ve TH2 hücrelerinden farklı bir T hücre alt grubudur (66). TH17 hücrelerinin keşfedilmesi enflamatuvar sürecin daha iyi anlaşılmasına katkı sağlamıştır. Çünkü, TH1 hücrelerinin IFN- $\gamma$  ekspresyonu ile dokulardaki enflamasyona nasıl aracılık ettiği kesin olarak belli değildi. TH17 hücreleri IL-17, IL-6, TNF- $\alpha$  ve IL-22' yi ekprese eder (67-71). Otoimmün modellerde, TH1 hücrelerinin genetik delesyonu olmadan IL-17'nin nötralize edilmesi dokudaki patolojiyi gidermektedir (72). Anti-IL-17 deneysel artritlerde eklem hasarını azaltırken, deneysel astım modelinde eozinofil infiltrasyonunu artırmakta nötrofil infiltrasyonunu



ise azaltılmaktadır (13,73,74). Dışarıdan uygulanan IL-17' nin pulmoner eozinofil birikimini ve bronşiyal aşırı duyarlılığı azalttığı için IL-17' nin reglatuvar rolü olabileceği ileri sürülmüştür (75). Bu nedenle, TH17' nin yönlendirdiği nötrofil infiltrasyonu TH2 aracılı (ya da IL-5 aracılı) eozinofili ile (TH1-TH2 arasındaki ters ilişkiye benzer şekilde) ters yönlüdür. Restimulasyondan sonra TH17 hücrelerinin IL-17 ağırlıklı fenotipi kaybetmediği, IL-17 promoterinin kromatin remodelingine uğradığı ve TH17 hücrelerinin hem TH1 hem de TH2 hücreleri ile yarıştığı ve böylece ayrı bir T hücre alt grubunu oluşturduğu gösterilebilmiştir (67,76,77).

Yayınlanan veriler çoğunlukla fare modelindeki çalışmalardan sağlansa da IL-17' nin fonksiyonları proinflamatuvar rolü göstermekte ve TH17 hücrelerinin otoimmünitede olası rol oynadığını düşündürmektedir (60). TH17 hücrelerinin anahtar sitokini IL-17' nin IL-6, TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  gibi proinflamatuvar sitokinleri ve CXCL1,2,8 gibi akut enflamatuvar süreçle ilişkili kemokinleri indüklediği bilinmektedir (60). Kemokinler, nötrofilik enflamasyonun histolojik olarak görünümünden sorumlu olan ve TH-17 aracılı enflamasyonunun tipik özelliğini yansıtan nötrofillerin toplanmasını sağlar. Alerjide TH17 hücrelerinin rolü hala kesin olarak açıklanamamıştır. Ancak deneysel modeller TH17 hücrelerinin akut havayolu enflamasyonunda nötrofilik enflamasyon için önemli olabileceğini düşündürmektedir (13,78-81). Nötrofil infiltrasyonu akut astım ataklarında da gözlenmiştir. Balgam IL-17 mRNA' sının CXCL8 ve nötrofil sayısı ile korelasyon gösterdiği bulunmuştur (14). Ayrıca, IL-17' nin insan havayolu düz kasındaki ve epitel hücrelerindeki kemoatraktanları indüklediği bildirilmiştir (15,16).

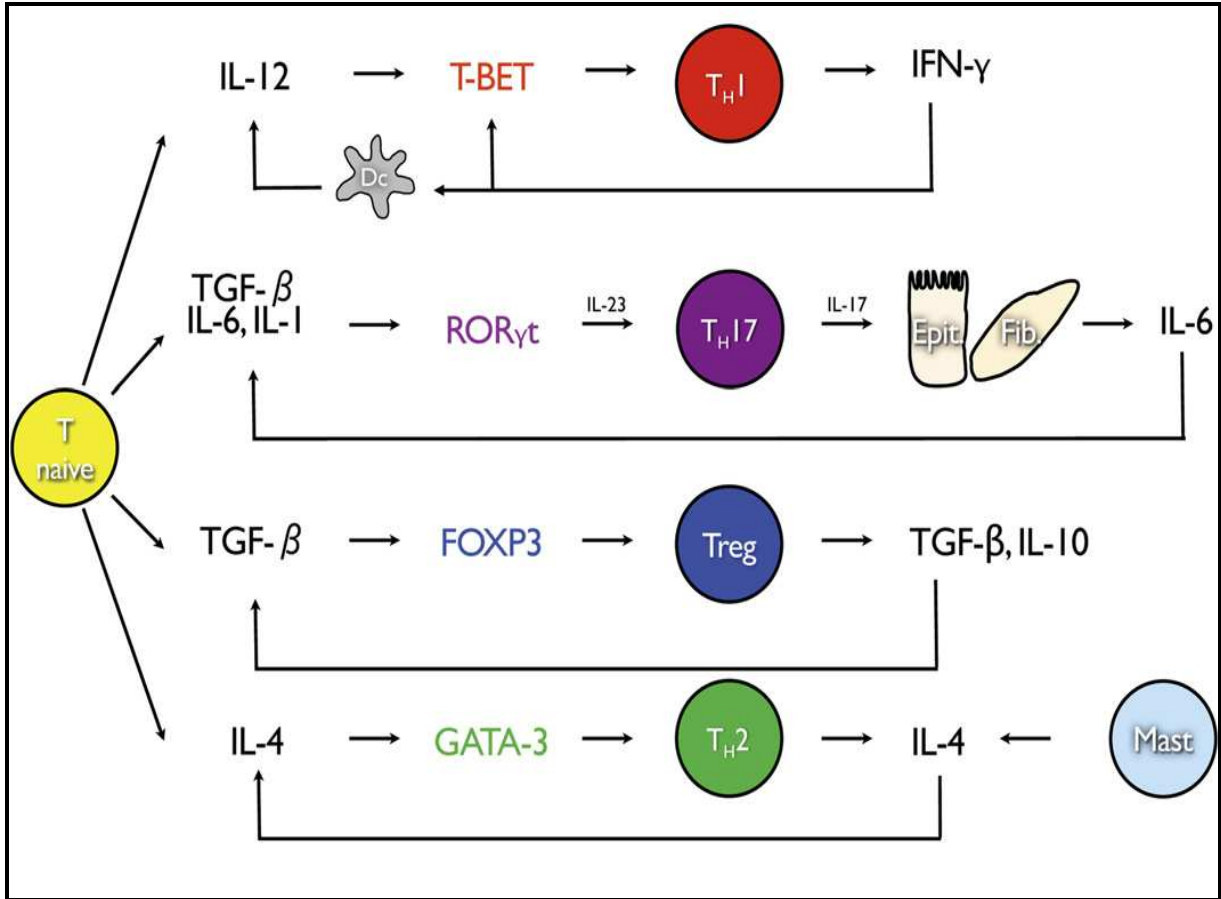
TH17 hücreleri anjiogenezis ya da mukus sekresyonu gibi temel prosesler açısından aktivasyon eşiklerine erişmek için özel ve doğal immün sistemin etkenlerini birleştirir. Bu aktivite temel olarak IFN- $\gamma$  sekresyonunun profesyonel olmayan ASH' lerde MHC-II ekspresyonunu mobilize ettiği ya da epitel hücreleri ya da keratinositlerdeki apoptozisi indüklediği ortamdaki TH1 hücrelerinin aktivitesinden farklıdır. Üstelik, TH17 hücreleri teorik olarak matriks depozisyonunu azaltabilir. Çünkü TH2 hücrelerinin tersine, TH17 hücreleri artritte TH17 aracılı kıkırdak yıkımının esas mekanizmasını oluşturan ve alerjide remodeling açısından yararlı olabilen metalloproteinazları indükleme yeteneğine sahiptir (81,82). TH1 ve TH2 hücrelerinin tersine TH17 hücreleri nötrofillerin birikmeleri ve yaşamlarını sürdürmesini, matriks degradasyonu ve yapısal hücrelerde proinflamatuvar

sitokinlerin indüksiyonunu destekleyerek doku enflamasyonuna aracılık eder. Ciddi enflamatuvar hastalıklardaki bu patolojik süreçlere rağmen, TH17 hücrelerinin sağlıklı kişilerde bakteri ve mantar enfeksiyonlarına karşı organizmayı koruduğu da akılda tutulmalıdır (60).

Anti-IL-17 tedavisinin sinovyal enflamasyonu ve eklem erozyonunu azaltmakta etkili olduğu gösterilmiştir (73). Üstelik Anti-IL-17 bronkoalveolar lavaj sıvısında IL-5 ekspresyonunu ve bronşiyal eozinofiliyi artırdığı bulunmuştur (13). Bu bulgular koordineli ve dokuya özgü T hücre fenotiplerinin indüksiyonunun immün reaksiyonların büyüklüğünü, etkinliğini, tipini ve uygunluğunu belirlediğini göstermektedir. Hastalığın başlangıcında ve seyrinde T hücre alt gruplarının dengesi patojenik özellikleri belirler. Yeni T hücre alt gruplarının keşfedilmesi bu hücreler arasındaki birbirine bağlı ilişkilere ışık tutmaktadır (Şekil 4). TH1 hücreleri TH2 ve TH17 gelişimini inhibe eder (61). TH2 hücreleri ise TH1 gelişimini inhibe eder. Bu yüzden, bir diferansiyasyon yolundaki herhangi bir engel, dengeyi diğer yöne çevirecektir. Bu yollardaki moleküler mekanizmalar yollardaki transkripsiyon faktörlerinin seviyesinde gösterilmiştir [TH1 için T-Bet, TH2 için GATA-3, Treg için FOXP3 ve TH17 hücreleri için retinoid orphan receptor gama t (ROR $\gamma$ t)] (4,5,6,7). T-bet TH17 hücrelerine engel olur ve direkt olarak hedeflerine bağlanarak da GATA-3'ü bloke eder (62). Bu yarışmalı etkileşim genetik zeminde olur (77). Bu negatif yarışmalı regülasyon sürecinin yanı sıra TH17 ve Treg hücrelerinin keşfi T hücre biyolojisinin başka bir anahtar özelliğini ortaya çıkarmıştır: bütün diferansiyasyon yolları, T hücre alt grubu polarizasyonuna ait otokrin ve parakrin mekanizmaya hizmet eden pozitif bir feedback loop' unu kullanır (Şekil 2).

TH1 hücreleri, naive T hücrelerinden T-bet' i direkt olarak indükleyen IFN- $\gamma$ ' yı üretir ve ASH' ler aracılığıyla indirekt olarak IL-12' yi tetikler. IL-12 ise T-bet indükleyicisidir ve TH1' in çalışması için esas sitokindir. TH2 hücreleri, otokrin GATA-3 bağımlı diferansiyasyon için zorunlu olan IL-4' ü üretir. Mast hücreleri ve mikroçevredeki diğer kaynaklar TH2 polarizasyonunu artırmak için ilave IL-4 üretirler. Treg hücreleri, FOXP3 eksprese eden hücelere diferansiye olmak için TGF- $\beta$  gerektirir. Treg hücreleri aynı zamanda TGF- $\beta$  ekspresyonu için potansiyel bir kaynaktır. Oysa TGF- $\beta$ ; T-bet ve GATA-3 ekspresyonunu inhibe eder ve böylece TH1 ve TH2 diferansiyasyon yollarına engel olur (83,84). Hem Treg hem de TH17 diferansiyasyonu TGF- $\beta$ 'ya bağımlıdır. T hücrelerinde TGF- $\beta$  ekspresyonundan yoksun

hayvanlar TH17 oluşturmazlar. Ancak, Treg hücreleri sıklıkla değişikliğe uğramaz. Bu da, Treg hücrelerinin TGF- $\beta$ ' yı T hücre olmayan kaynaklardan aldığını düşündürmektedir (85). Treg' li hücrelerin tersine, TH17 hücreleri TH17 fenotipine doğru Treg hücre yolundan uzağa polarize olmak için ilaveten IL-6'ya gereksinim duyarlar (76). IL-17, TH17 hücrelerinin indüksiyonunda feed-back olabilen yapısal hücrelerde IL-6' yı indüklemektedir. IL-23' ün de TH17 hücrelerini indüklediği gösterilmiştir. Bu, TH17 hücrelerinin IL-22 komponenti için önemlidir (71). Çünkü IL-6'ya benzer şekilde, IL-23 dendritik hücrelerde IL-17 tarafından indüklenmektedir (86). Epitel hücrelerinde IL-6 pozitif feedback loop ve dendritik hücrelerde IL-23 loop'u TH17 hücreleri oluşturur.

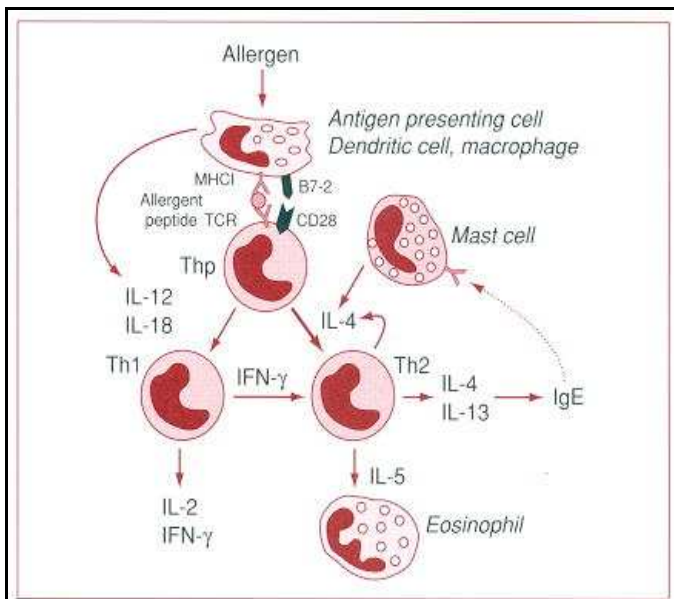


**Şekil 2.** T hücre diferansiyasyonu sırasında transkripsiyon faktörlerindeki pozitif feedback loop'ları. Epit: epitelyum hücreleri, Fib: fibroblastlar.

## 2.5. Patogenez

### 2.5.1. Alerjik duyarlılaşma ve enflamasyon

Normal şartlarda, nazal mukoza etkili bir şekilde solunan havayı temizler ve nemlendirir. Bu, Lokal ve humoral defans mediatörlerinin etkileşiminin bir sonucudur. AR'de bu mekanizmalar uygun şekilde çalışmaz ve AR'in klinik bulguları ortaya çıkar. AR'deki alerjik duyarlanma güçlü bir genetik komponente sahiptir. IgE geliştirme yatkınlığı, mast hücre ve TH2 lenfosit immün yanıtları atopik kişiler tarafından kalıtılmaktadır. Çevreden mukozaya ulaşan bir antijen önce submukozal ASH tarafından fagosite edilir. ASH de bir dizi işlem arkasından (antigen processing) epitoplara bir dizge haline getirilir. Bu son ürün ASH yüzeyine MHC-II molekülü ile eksprese edilir. Sunuma hazır hale getirilen bu antijen daha önce bir antijen tanıtılmamış native-TH lenfositine sunulur. Bu sunumda native-TH hücresi ASH tarafından sunulan işlenmiş antijeni T-hücre reseptörü-CD3 kompleksi ve CD4 molekülü ile bağlanarak tanır. Bu arada ASH ve naive-TH arasındaki adezyon ICAM-1 ve LFA-1 ile sağlanır. Sonuçta bu naive TH IL-2 salgılayarak aktif hale gelir ve dengeli bir TH alt grup aktivasyonu ile TH1 ve TH2'ye dönüşür. Aktive olan TH1, IFN- $\gamma$  salgılayarak hücreli immün yanıt, TH2 ise IL-4, IL-5 ve IL-13 salgılayarak humoral immün yanıtı sağlar. Her iki sitokin grubu birbiri için süpresördür. Ancak genetik yatkınlık nedeniyle bu sunum daha fazla oranda TH2 lehine olursa mikroçevrede baskın miktarda IL-4, IL-5, IL-13 bulunur ve bu fazla miktarda IgE sentezlenmesine yol açar (Şekil 3).



Şekil 3. Alerjik yanıtta TH1/TH2 imbalansı

Ortama fazla miktarda salınan antijene spesifik IgE; sistemik dolaşım ile tüm vücuda yayılır. Submukozal ve subdermal mast hücreleri başta olmak üzere tüm mast hücrelerine Fc $\epsilon$ R-1 ve Fc $\epsilon$ R-2 reseptörleri ile bağlanır (87).

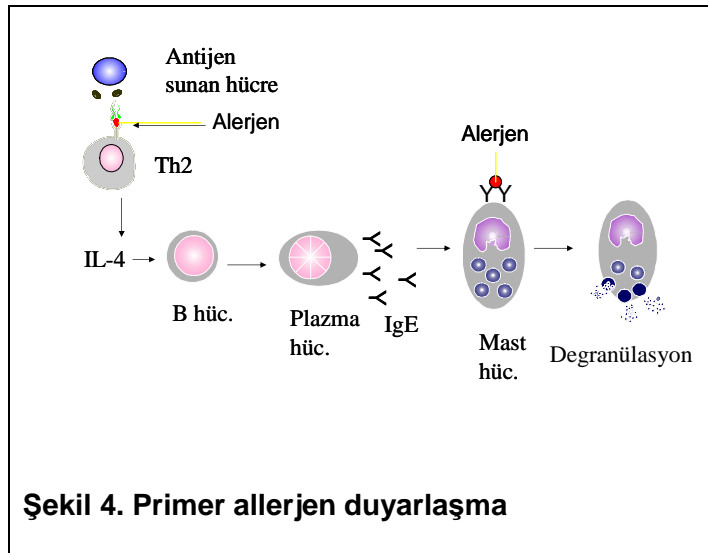
Alerjik hastalık açısından hedef organdaki tutulum klinik bulguları belirler. Alerjik duyarlılık

geliştikten sonra allerjenin tekrar mukozaya ulaşması ile alerjik enflamasyon başlar. Bu enflamasyon iki fazda gerçekleşir:

**1.Alerjik enflamasyonun erken fazı:** Alerjen yeniden karşılaşmadan sonraki 15-60 dakikada gerçekleşir.

**2.Alerjik enflamasyonun geç fazı:** Alerjen yeniden karşılaşmadan sonraki 4-8 saatte gerçekleşir.

Erken faz, IgE aracılıklı hipersentivite reaksiyonu şeklindedir. Duyarlı hale gelmiş bir çocuk aynı allerjen ile tekrar karşılaştığında, allerjen dakikalar içinde mast hücre-IgE kompleksine bağlanır. Bu bir transmembran sinyal iletimine neden olur. Bu sinyal sonucunda mast hücre içindeki granüller hücre membranı ile birleşir ve depo haldeki mediatör içerikleri hücre dışına boşalır (degranülasyon) (Şekil 4).



Granüllerden boşalan bu mediatörler genelde vazoaktif ve inaktif pro-proteinleri aktifleyici özellik içeren, proteolitik enzimlerden oluşan histamin, triptaz, kimaz, kininojenaz, heparin gibi önceden sentez edilmiş olanlardır. Ayrıca mast hücre membranında allerjen-IgE birleşimi esansında de novo

olarak membran lipidlerinden birçok araşidonik asit ürünü effektor mediatör sentezlenir. Bunlar prostaglandin D2 (PGD2) ve sulfidopeptidil lökotrienler (LTC4, E4, D4) dir. PGD2 en iyi mast hücre aktivasyon markırıdır. LTD4 vucüttaki en güçlü bronokspazm ajanıdır. Ayrıca mast hücrelerinde depo ve denovo olarak sentez edilen allerjik enflamasyonda rol oynayan bir çok sitokin (IL-3, IL4...) ortama salınır. Bu depo ve de novo sentez edilen mediyatörler; özellikle histamin, kinin ve LT'ler; vasküler permeabilite artışına mukozal ödeme, serbest sinir uçlarında irritasyonla akut ve kronik nörial innervasyona neden olur. Bunun sonucunda hedef organa özgün bulgular gelişir. AR'de konjesyon, burun akıntısı, kaşıntı ve hapşırığa yol açar (88,89).

Geç faz alerjik yanıt ise erken fazın bir devamıdır, erken fazda salgılanan sitokinlerce oluşturulur. Alerjik enflamasyonun karakteristiği olan eozinofil infiltrasyonu bu dönemde sağlanır. Allerjen ile temastan 4-8 saat sonra ortaya çıkar. Geç faz yanıt başta eozinofiller ve lenfositler olmak üzere bazofil, monosit ve makrofaj gibi enflamatuvar hücrelerin bölgede toplanması ile karakterizedir. Bu tipik infiltrasyon erken fazda salgılanan sitokinlerce başlatılır. Örneğin IL-4 ve IL-13, IgE sentezinin daha da artmasını sağlar. IL-3 kemik iliğinden daha fazla TH lenfosit, eozinofil ve mast hücre sentezine neden olur. IL-5 eozinofillerin sentez, nazal mukozaya kemotaksisini artırır ve apoptozise uğramalarını önler. Her bir allerjen ile temasta bu döngü bir kez daha tekrarlanır ve potansiyelize olur. Bu döngü antienflamatuvar bir rejimle kırılmadıkça alerjik hastalık ortadan kaldırılamaz. IL-4 ayrıca endotel hücrelerinde damar hücresi adezyon molekülü-1 (VCAM-1) ekspresyonunu uyarır. Erken faz sırasında salgılanan mast hücre kökenli mediyatörler (histamin, triptaz, kimaz, kininojenaz, heparin, PGD2 ve sulfidopeptidil lökotrienler, gibi) endotel hücrelerine adezyonunu kolaylaştıran damar hücresi adezyon molekülü (vascular cell adhesion molecule-VCAM) ve E-selektin ekspresyonunu artırırlar. IL-5 gibi kemoatraktan sitokinler de eozinofiller, nötrofiller, bazofiller, T lenfositleri ve makrofajların mukozayı infiltre etmesini kolaylaştırırlar (90,91). Bu reaksiyon klinik olarak erken faz reaksiyonundan ayırt edilemez, ancak konjesyon bu fazda daha ön plandadır (92).

## **2.6. Alerjik Rinitte tanı**

### **2.6.1. Anamnez ve fizik muayene**

Çocuklarda AR' in tanısında en etkili yöntem dikkatli bir anamnez ve fizik muayenedir. Çocuklarda AR, sıklıkla tanınmamakta ya da yineleyen soğuk algınlığı şeklinde yanlış tanınmaktadır. Öksürük özellikle geceleri belirgin hale geldiğinde, AR yanlışlıkla "cough-variant asTHma" olarak düşünülebilir. Doğru tanıyı koyabilmek için, klinisyen AR semptom ve bulgularını iyi bilmeli, rinitin varlığını anlayacak spesifik sorular sormalıdır (Tablo 2) (93).

Alerjik rinitin tipik semptomları hapşırık, burunda kaşıntı, burun akıntısı ve tıkanıklıktır. Burun tıkanıklığı bir ya da iki taraflı olabilir ve birinden diğerine tıkanıklık değişebilir. Tıkanıklık geceleri daha belirgindir. Burun tıkanıklığı olan hastalarda

gecelemi ağızdan soluma ve horlama olabilir. Ayrıca, uyku bozuklukları da AR'in varlığına işaret edebilir. Kronik AR' de yüz gelişim anomalileri, diş bozuklukları, ağzın açık kaldığı alerjik yüz görünümü olabilir. AR'li hastaların konuşmaları hiponazaldır, burun çekme ve horuldama olabilir. Burun kaşıntısı hastanın burnunu, yüzünü ve gözünü oynatmasına ve bazan burunda kanamayla sonuçlanan sık sık burnunu karıştırmaya neden olabilir. Çocuklar sıklıkla elinin ayasıyla burnunun ucunu yukarı kaldırır ve buna "alerjik selam" adı verilir. Bu sıklıkla burnun 1/3 alt bölümünün üzerinde yatay bir deri kıvrımına "alerjik burun çizgilenmesi" neden olur. AR' li çocuklarda yineleyen sinüzit, otitis media, ekzema ya da astıma görülebilir. AR' li hastalar kırmızı, kaşıntılı gözlerden, boğaz ve kulak kaşıntısından yakınabilirler. Hastalar aynı zamanda koku ve tat alma duyusunu da kaybedebilirler. Sorumlu alerjene maruz kalındığında, örneğin çimenlerin kesilmesinden sonra, semptomlarda artış görülebilir.

**Tablo 2.** Alerjik Rinit' in belirti ve bulguları

- 
- ✓ Burun, kulaklar, yumuşak damak ya da boğazda kaşıntı
  - ✓ İnce ve berrak burun akıntısı
  - ✓ Burun tıkanıklığı
  - ✓ Uyuma epizodları
  - ✓ Baş ağrısı
  - ✓ Östaki tüp disfonksiyonu
  - ✓ Ağızdan soluma ya da horlama
  - ✓ Kronik postnazal akıntı
  - ✓ Kronik ve prodüktif olmayan öksürük
  - ✓ Sık sık boğaz temizleme
  - ✓ Uyku bozukluğu
  - ✓ Gündüzleri yorgunluk
-

Alerjik reaksiyonun gelişimi ile ince ve berrak burun akıntısı, muköz membranlarda eritem olmaksızın ödemli bir görünüm oluşacaktır. Mukoza mavi-gri renktedir. Sürekli alerjene maruz kalındığında konkalar ödemli hale gelecek ve nazal havayolunu tıkayacaktır. Alerjik rinokonjunktivitli hastalarda ilave olarak konjunktival ödem, gözlerde kaşıntı, akıntı ve hiperemi görülür. Belirgin burun tıkanıklığı ve venöz konjesyonu olan AR'li hastalarda göz altlarında ödem ve koyulaşma görülebilir. Bu "shiner" alerjik rinit için patognomonik değildir. Çünkü kronik rinitli ve/veya sinüzitli hastalarda da görülebilir. Ciddi olgularda, özellikle polen mevsiminde gözün muköz membranları, üstaki tüpü, orta kulak ve paranasal sinüsler etkilenebilir. Bu, konjunktival iritasyon (kaşıntı, sulu göz), kırmızılık, göz yaşarması, boğaz kaşıntısı yanaklar ve alında basınç hissine neden olur. Kırınglık, halsizlik ve yorgunluk da görülebilir (94).

Polen mevsiminin başlaması ile tipik rinit semptomları arasında açık bir ilişki ortaya konulduğunda AR tanısı koymak kolaydır. Ancak tipik rinit semptomlarının tümü olmadığında tanı koymak daha zordur. Enflamasyon ve geç faz alerjik reaksiyonun sonucu olan kronik burun tıkanıklığı, tek başına perennial AR'in majör semptomu olabilir (92). Perennial rinitli hastalarda, semptomlar kroniktir ve persistandır ve hastalar ağızdan soluma, horlama, sinüzit, otitis media ya da "inatçı soğuk algınlığı" gibi sekonder yakınmalara sahiptirler

### **2.6.2. Tanı testleri**

Ev tozları, polenler ve hayvan tüyleri gibi spesifik alerjenlere karşı IgE antikorlarının varlığının laboratuvarında gösterilmesi, özellikle spesifik alerjen maruziyeti öyküsü vermeyen hastalarda, spesifik alerjik hastalık tanısını koymakta yardımcıdır. Birçok hastada, spesifik alerjenler açısından test uygulamak, ailenin ve hastanın alerjik hastalık konusunda ikna edilmesi ve çevresel kontrol önlemlerinin önemini pekiştirmek için gereklidir. Klinisyenler deri testi için alerjenleri belirlerken seçici davranmalı ve klinik önemi olan alerjenleri kullanmalıdır. Perennial inhalan alerjisi olan çocukta deri testi için en yararlı alerjenler ev tozları, hayvan tüyleri ve mantarlardır. Mevsimsel alerjik rinitin tanısındaki önemli alerjenler yabancı ot, çimen ve ağaç polenleridir. Polenler açısından anlamlı bir coğrafik spesifite olduğu için, bu mevsimsel alerjenlerin önemi sadece yılın mevsimi ile değil, aynı zamanda coğrafik



dağılım ile de yakından ilgilidir. Bu nedenle deri testinde kullanılan alerjenler bireyselleştirilmeli, hastanın yaşadığı ve oynadığı okul, ev ve ülkenin coğrafik bölgesindeki sıklığı göz önüne alınarak seçilmelidir (94).

Spesifik IgE antikorlarını saptamak için iki yöntem vardır : in vivo deri testi ve in vitro serum testi. Herbirinin avantaj ve dezavantajları vardır (Tablo 3).

**Tablo 3.** Alerji tanısında kullanılan deri testleri ile serum spesifik IgE'nin karşılaştırılması

<b>Deri testi</b>	<b>Serum Spesifik IgE</b>
Daha ucuz	Hasta için riski yok
Daha duyarlı	Antihistaminikler tarafından baskılanmaz
Yaygın alerjen seçimi	Sonuçlar kantitatifdir
Sonuçlar hemen alınabilir	Deri testine tercih edildiği durumlar Dermatografizm Belirgin ve yaygın dermatit Deri testi için hastanın uyumsuz olması

## **DERİ TESTİ**

Uygun şekilde yapılmış deri testi, alerjen-spesifik IgE'yi saptamak için en iyi yöntemdir. Alerjik yakınmalarla gelen hastaların tanısının konmasında ayrıntılı bir öykü alındıktan ve fizik muayene yapıldıktan sonra, deri testleri önemlidir. Deri testleri yardımıyla aeroallerjenler, gıdalar, böcek ısırıkları ve belirli ilaçlar gibi allerjik tetikleyicilere özel IgE ile oluşan allerjik rinit, astım ve anafilaksi gibi hastalıkların teşhisi daha kolay konulabilir ve spesifik bir ajana karşı hassasiyetin derecesi saptanabilir. Özellikle immünoterapi planlanan hastada veya çevresel tedbirlerin alınmasının önerilmesi açısından deri testleri yardımcıdır (95). Alerji deri testlerinin

yapılması kolaydır, çabuk uygulanır, ucuzdur ve sensitivitesi yüksektir. Günümüzde yaygın olarak kullanılan deri testleri epidermal ve intradermal olmak üzere iki farklı şekilde yapılır. Perkütan testler içinde en sık prik testi kullanılır. Prik testini ilk tanımlayanlar 1926 yılında Lewis ve Grant'tır (96). Prik deri testi yapılırken ön kolun volar yüzüne veya sırtta allerjen ekstreleri damlatılır, bir lanset ile bu damlanın içinden yüzeyle dar açılı yapılacak şekilde epidermise ulaşılır, lansetin ucu epiderminin bir kısmını kaldıracak şekilde yukarı doğru kanatmadan hafifçe çekilir. Ayrıca, daha önce antijenle hazır olarak yüklü cihazlarla da test yapılabilir. Deri testi yapılacak yer olarak ön kolun sırtta göre daha çok tercih edilmesinin sebebi, olası bir sistemik reaksiyonda test yapılan bölgenin üzerine turnikenin daha kolay bağlanabilmesidir. Prik testin negatif olduğu, ancak öykünün pozitif olduğu durumlarda intradermal testlerin yapılması tavsiye edilmektedir. Prik testlerin en önemli dezavantajı yalancı negatif sonuç elde etme oranının daha yüksek oluşu iken, intradermal testlerde yalancı pozitiflik oranı prik teste göre daha fazladır. Kısacası prik test daha spesifik, ama daha az sensitivdir. İntradermal test prik teste göre daha sensitivdir, ama yapılması daha zordur. Daha çok zaman alır ve hasta için daha fazla rahatsızlık vericidir. Ayrıca, intradermal testte sistemik reaksiyon riski daha fazladır. Bu risk nedeniyle öncelikle prik test yapılmalı, prik test negatif ise ve hala klinik şüphe yüksek ise intradermal test yapılmalıdır (95).

## **DERİ TESTİ İÇİN KULLANILACAK ALLERJENLER**

Test için kullanılacak allerjen ekstrelerinin standardize olması gereklidir. Allerjen ekstrelerinin buzdolabında 4°C'de saklanması gereklidir. Allerjenler öncelikle hastanın öyküsüne göre seçilmelidir. Ayrıca, yaşanan coğrafi bölgenin özellikleri de dikkate alınmalıdır. Mevsimsel allerjik şikayetlere yol açan polenler, sıklıkla ilkbaharda rüzgarla yayılan ağaç polenleri iken, yaz döneminde daha çok ot polenleri, geç yaz döneminden soğukların başlamasına kadar olan dönemde ise yabancı ot polenleridir. Polenizasyon paternleri iklimsel faktörlerden etkilenebileceği gibi, aynı bölgede yıldan yıla da değişiklik gösterebilir. Hangi allerjenlere test yapılacağına karar vermeden önce hastanın dikkatli bir şekilde öyküsü alınmalı ve hastanın hangi allerjenlere maruz kalabileceği tahmin edilmeye çalışılmalıdır. En az altı, en fazla 70 allerjene kadar test yapılabilir. Hastanın öyküsü, yaşı, yaşadığı yerin coğrafi

özellikleri, polenizasyon durumu ve immünoterapi düşünülüp düşünülmemesine göre allerjen sayısı değişebilir. Hekimin tecrübesi ve deneyimi de önemlidir (95119).

## **DERİ TESTLERİNİN YAPILIŞI ve DEĞERLENDİRİLMESİ**

Test yapılırken negatif kontrol için fosfat ile tamponlanmış serum fizyolojik, pozitif kontrol için histamin kullanılır. Allerjen ekstreleri birbirlerinden en az 2-5 cm arayla deri yüzeyine damlatılır. Test yapılmadan önce hastanın cildi alkolle temizlenir, kuruması için biraz beklenir, ardından test yapılır. Deri testi sonuçları testlerin ardından 15-20 dakika sonra değerlendirilir. Prik testi için ödem çapı negatif kontroldekinden 3 mm veya daha fazla ise pozitif kabul edilip, değerlendirme yapılabilir (97).

## **TESTİ ETKİLEYEBİLECEK FAKTÖRLER**

Test yapılmadan önce testi etkileyebilecek ilaçların kullanılıp kullanılmadığı da sorulmalı ve hastaya yapılacak işlem anlatılıp onam formu doldurulmalıdır. Ayrıca, test sonucunun işlendiği forma hastanın adı ve soyadının yanı sıra kullanılan test yöntemi, kullanılan test materyalinin cinsi ve testin yapıldığı yer kaydedilmelidir. Kullanılan ekstrelerin konsantrasyonları ve negatif ve pozitif kontrolün sonuçları da not edilmelidir. Deri testlerini etkileyebilecek yaş, dermatolojik bozukluklar, ilaçlar, testin yapıldığı bölge, immünoterapi yapılıp yapılmadığı gibi faktörlerin de test sonuçlarını etkileyebileceği bilinmelidir. Antihistaminik kullanan hastaların testten 3-10 gün önce ilacını kesmesi gerektiği hastaya hatırlatılmalıdır. Antihistaminikler dışında trisiklik antidepresan ilaçlar, bazı trankilizan ve antiemetik ilaçlar, dopamin ve klonidin gibi ilaçlar deri testi yanıtını azaltabilir (95,98). Kısa süreli oral kortikosteroid kullanımı test sonuçlarını etkilemez, ancak topikal kortikosteroid kullanımı deri reaktivitesini azaltır. Bu nedenle testten en az bir hafta önce kullanımına ara verilmelidir. Ayrıca, her deri testinde anafilaksi için gereken tedbirler alınmalı ve hasta deri testinden sonra en az 20 dakika gözlenmelidir. Hekimin olmadığı yerde deri testi yapılmamalıdır. Testler okunduktan sonra hasta kaşıntıdan çok rahatsız olursa buz uygulaması ve antihistaminik verilebilir. Kaşıntıyı hafifletmek için nemlendirici veya losyon da uygulanabilir (95,99).

## SPESİFİK İGE

Spesifik IgE, risk taşımayan, kısa sürede yapılabilen ve deri hastalığı olanlarda da uygulanabilen bir testtir. Provokasyon testlerine göre daha ucuzdurlar. Ancak sensitiviteyi düşüktür ve deri testine göre daha pahalı yöntemlerdir. Kullanılan yöntemler immünoassaylerdir: “Enzyme linked immünoassay analysis (ELISA)”, “radioallergosorbent test” ve floresans enzim immünoassay’dir. Prensipte olarak haptent taşıyıcı antikor kompleksi nin saptanması ilkesine dayanır. En sık floresans enzim immünoassay kullanılmaktadır, Pharmacia CAP sistemi bunlardan biridir. Test edilen ilaç immün CAP ile kovalent olarak bağlanır ve hasta serumundaki ilaca spesifik IgE ile reaksiyona girer. 0.35 kUA/L cutt-off değeridir. Bu değer altı negatiftir, 0.35-100 kUA/L arasındaki değerler pozitif kabul edilir (100).

İn vitro testler şu durumlarda deri testinin yerine kullanılabilir: (1) Hastada dermatografizm ya da belirgin dermatit bulunuyorsa, (2) Hasta antihistaminikleri ya da deri testini etkileyen ilaçları kesmemiş ya da kesemiyorsa, (3) Hasta çok alerjik ve anafilaksi olasılığı çok yüksekse, (4) Hasta deri testine uyum göstermiyorsa.

Alerjen-spesifik IgE için pozitif deri testi sonuçları alerjik hastalık tanısı için tek başına yeterli değildir. Alerjik hastalık tanısı koymak için standart olarak (1) pozitif öykü, (2) spesifik IgE antikorlarının saptanması, (3) semptomların IgE aracılı yangının sonucu olduğunun gösterilmesi gerekir (94).

### **III. AMAÇ**

Alerjide TH17 hücrelerinin rolü hala kesin olarak açıklanamamıştır. Bu çalışmada bizim amacımız, alerjik rinitli olgularda atopik diferansiasyonda TH-17 ve IL-17' nin rolünü incelemektir.

## IV. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Pediatrik Alerji Bilim Dalı ve Solunum Birimi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı Alerji ve İmmünoloji Bilim Dalı, Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı, Biyokimya Anabilim Dalı ve Histoloji - Embriyoloji Anabilim Dalı ile birlikte yürütüldü. Çalışma, Tıp Fakültesi etik kurul başkanlığı tarafından onaylandı ve Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu (No: 2008-006) tarafından desteklendi. Çocuk yaş grubundaki olguların ebeveynlerinden, erişkin yaş grubundaki olguların kendilerinden bilgilendirilmiş onam formu alındı.

Çalışma, zeytin polen mevsimi olan mart-nisan-mayıs aylarında yapıldı. Çalışmaya AR semptom ve bulguları olan, deri prik testinde zeytin polen alerjisi saptanan ve başka herhangi bir alerjene duyarlılığı olmayan, yeni tanı almış, daha önceden hiç tedavi almamış, 10 yaş ve üzerindeki mevsimsel alerjik rinitli 41 hasta (13 erkek, 28 bayan) alındı. Daha önce başka bir nedenle deri testi yapılmış, atopik olmayan ve başka bir nedenle (örneğin nazal septal deviasyon) nazal operasyon yapıma endikasyonu olan 15 olgu (6 erkek, 9 bayan) sağlıklı kontrol grubu olarak alındı. Mevsimsel AR' li hastaların yaş ortalaması  $30.8 \pm 15.2$  yıl (yaş aralığı: 10-62 yıl), sağlıklı kontrol grubunun yaş ortalaması  $29.6 \pm 10.1$  yıl (yaş aralığı: 18-60 yıl) idi. Mevsimsel AR tanısı öykü, fizik muayene ve deri testi sonucuna göre konuldu.

Gerek AR' li hastalar gerekse de kontrol grubundaki olguların herhangi bir enfeksiyon tablosu, ya da özellikle antialerjik, inhale, nazal ya da sistemik antienflamatuvar ilaç kullanımı yoktu. Hiçbiri özel bir diyet ya da egzersiz programı uygulamıyordu. Hasta grubundaki olguların semptomatik oldukları ve deri testlerinin yapıldığı gün nazal lavaj sıvıları ve nazal biyopsi örnekleri de alındı. Kontrol grubundaki olguların nazal biyopsileri ve nazal lavaj sıvıları da AR' li hastaların örneklerinin alındığı aynı polen döneminde alındı.

## **Deri Prik Testi**

Alerjik duyarlılık deri prik testi ile değerlendirildi. Deri testi sonucunu etkileyebilecek antihistaminik, hidroksizin veya trisiklik antidepresan gibi ilaçları son 10 gün içinde kullanan olgular çalışmaya alınmadı. Alerji prik testleri önkol ön yüzünden en çok karşılaşılan 43 allerjen ekstreleri kullanılarak yapıldı (Allergopharma Ltd, Reinbek, Germany). Deri testinde olea europea (zeytin), platanus orientalis, populous albe, ulmus scabre, cotylus avellana, betula verrucoso, early blossoming trees, fraxinus excelsior, qercus robur, grasses-cereals, krauter, rumexacetosa, anTHoxum ador, lolium perenne, secale cereal, ambrosia trifida, festuca pretense, poa pratensis, phleum pretense, triticum sativum, salix coprea, plantago lanceolata, dactylis glomerata, parietaria offic, artemisia vulgaris, hordeum vulgare, mediterr herbs, grasses, zea mays, latex, cockroach, dermatophagoides pharyngea, dermatophagoides pteronyssinus, mantarlar, kedi-köpek epiteli ve sheepwool kullanıldı. Pozitif kontrol için histamin, negatif kontrol için serum fizyolojik kullanıldı. Deri testi için özel hazırlanmış olan allerjen ekstreleri, ön kol iç yüzü gibi cildin nisbeten daha kılsız olan bir bölümüne damlatıldı. Ardından bu iş için özel olarak imal edilmiş lanset yardımı ile allerjen ekstreleri cilde epikütan olarak uygulandı. Değerlendirme 20 dakika beklendikten sonra yapıldı. Negatif kontrolün oluşturduğu kabarıklık çapının 3 mm ve üzeri olması pozitif olarak değerlendirildi (97). Sadece zeytin ağaç polenine pozitif yanıt veren mevsimsel AR' li olgular çalışmaya alındı.

## **Nazal lavaj sıvılarının alınması**

Hastalar oturur pozisyonda ve başları geriye doğru yatay düzlemlerle 30 derece açıda olacak şekilde bükülü iken, bir burun deliğine 10 numaralı nazogastrik sonda yaklaşık 3 cm kadar sokuldu. On ml serum fizyolojik solüsyonu, nazogastrik sonda ile verildi. Bu sırada hastadan yutkunmaması ve soluğunu tutması söylendi. Daha sonra baş öne eğilerek, burundan damlayan sıvı plastik bir kabın içine toplandı. Aynı işlem diğer burun deliği için de yapıldı. Toplanan nazal lavaj sıvıları -80°C' de saklandı.

## **BİYOKİMYASAL ANALİZLER**

Alınan nazal lavaj sıvılarından, 41 hasta ve 15 kontrol grubunun ELİSA yöntemi ile IL-4, IL-10, IL-17, IL-23, IFN- $\gamma$  ve TGF- $\beta$  düzeyleri tayin edildi.

### **IL-4 TAYİNİ**

Ray Bio Human IL-4 immunassay kit (Ray Biotech, Inc., GA, USA) ile ELISA metodu ile çalışılmıştır. Intra-assay varyasyon katsayısı < %10, inter-assay varyasyon katsayısı <% 12 olarak saptanmıştır. Kitin sensitivitesi 5 pg / ml' dir. (Cat #: ELH-IL4-001).

### **IL-10 TAYİNİ**

Ray Bio Human IL-10 immunassay kit (Ray Biotech, Inc., GA, USA) ile ELISA metodu ile çalışılmıştır. Intra-assay varyasyon katsayısı < %10, inter-assay varyasyon katsayısı <% 12 olarak saptanmıştır. Kitin sensitivitesi 1 pg / ml' dir. (Cat # : ELH-IL10-001).

### **IL-17 TAYİNİ**

Ray Bio Human IL-17 immunassay kit (Ray Biotech, Inc., GA, USA) ile ELISA metodu ile çalışılmıştır. Intra-assay varyasyon katsayısı < %10, inter-assay varyasyon katsayısı <% 12 olarak saptanmıştır. Kitin sensitivitesi 10 pg / ml' dir. (Cat # : ELH-IL17-001).

### **IL-23 TAYİNİ**

Abcam Human IL-23 immunassay kit (Abcam plc 332, Cambridge, CB4 own UK) ile ELISA metodu ile çalışılmıştır. Intra-assay varyasyon katsayısı 4637 pg/ml için %1,6, 3908 pg/ml için %1,0, 3016 pg/ml için %2,4 olarak saptanmıştır. Inter-assay varyasyon katsayısı 4439 pg/ml için %6,2 , 3807 pg/ml için % 9,2, 2570 pg/ml için % 1,5 olarak saptanmıştır. Kitin sensitivitesi 20 pg / ml' dir. (Cat no : 64708).

### **TGF- $\beta$ TAYİNİ**

Ray Bio Human TGF- $\beta$  immunassay kit (Ray Biotech, Inc., GA, USA) ile ELISA metodu ile çalışılmıştır. Intra-assay varyasyon katsayısı < %10, inter-assay



varyasyon katsayısı <% 12 olarak saptanmıştır. Kitin sensitivitesi 80 pg / ml' dir. (Cat # : ELH-TGF- $\beta$  -1-001).

### **IFN - $\gamma$ TAYİNİ**

Ray Bio Human IFN - $\gamma$  immunassay kit (Ray Biotech, Inc., GA, USA) ile ELISA metodu ile çalışılmıştır. Intra-assay varyasyon katsayısı < %10, inter-assay varyasyon katsayısı <% 12 olarak saptanmıştır. Kitin sensitivitesi 15 pg / ml' dir. (Cat # : ELH-IFN - $\gamma$  -001).

### **Nazal Biyopsi Örnekleri**

Mevsimsel AR' li hastaların nazal konka inferior türbinat biyopsi örnekleri, Kulak Burun Boğaz hekimi tarafından lokal anestezi altında bir forceps cihazı ile alındı ve doku takip işlemine başlandı. Aynı işlem, Kulak Burun Boğaz hekimi tarafından kontrol grubundaki olgulara septoplasti operasyonu sırasında yapıldı. Alınan nazal biyopsi örneklerinin bir kısmında inceleme için yeterli doku gelmediği için, sekiz hasta ve sekiz kontrol grubuna ait doku örnekleri incelendi. Dokular immünohistokimyasal teknik kullanılarak T-bet, FOXP3, GATA-3, ROR-gama, CD3, CD4 ve CD17 antikorları ile boyandı ve 48 ayrı bölgede hücre sayımı gerçekleştirildi.

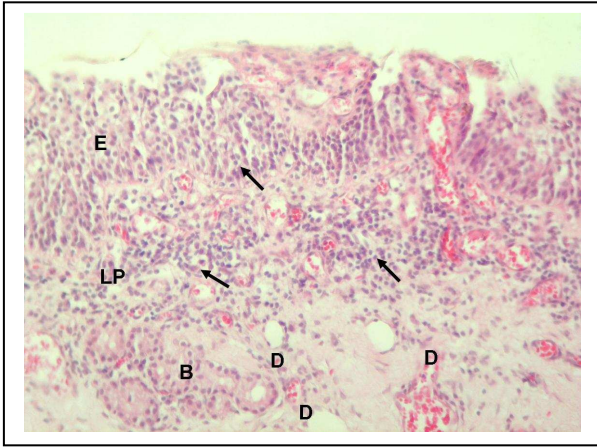
### **Histokimyasal Teknik**

Biyopsi yolu ile elde edilen nazal konka inferior türbinat doku örnekleri, ilk önce % 10 formol solüsyonuna konarak 24-48 saat fikse edildi ve daha sonra 12-16 saat akarsuda yıkandı. Ardından örnekler 30'ar dakika süreyle konsantrasyonu giderek artan (%60, 70, 80, 95, 100) etil alkol ile dehidrate edildi. Sonra ksilen alkolde 30 dakika, ksilende iki kez 45 dakika, ksilen-parafinde 30 dakika muamele edilen örnekler, 60°C' lik etüvde erimiş parafinde 1 saat, parafin I' de 1 saat ve parafin II' de 1 saat bekletildi. Etüvden çıkarılan parçalar, parafine gömülerek bloklandı. Işık mikroskopunda incelenmek üzere hazırlanan parafin bloklardan mikrotom kullanılarak 5 mikronluk seri kesitler alındı. Preparatların ilk bölümü histokimyasal yöntemlerle Hematoksilen (01562E SurgipaTH Europe, Bretton, UK) ve Eosin (01602 SurgipaTH Europe , Bretton, UK) ile boyandı. Boyanmış preparatlar Entellan (UN1866 Merck Germany) ile kapatıldı.

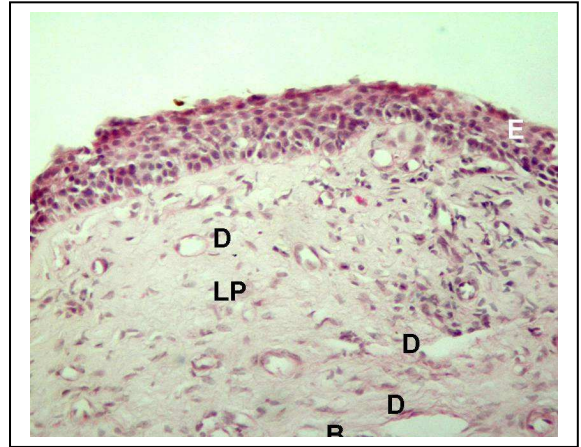
## İmmünohistokimyasal Teknik

Doku örneklerinin seri kesitlerinden elde edilen diğer preparatlardan immünohistokimyasal teknik ile boyama işlemi gerçekleştirildi. Preparatlar 60°C' lik etüvde 1 gece deparafinize edildi ve boyama işlemine başlandı. Önce preparatlar ksilenle 2 kez 30 dakika süreyle işleme tabi tutuldu. Sonra her biri 2 dakika süren %95, 80, 70, 60 konsantrasyonlarındaki etil alkol ile muamele edildi. Sonra kesitler sitrat tampon (50 ml Sitrat + 450 ml Distile su) içinde mikrodalga fırında 600 V 6 dakika kaynatıldı. Beş dakika boyunca distile su ile yıkandı. Distile sudan alınan kesitlerin etrafındaki su silinip, Dakopenle çevresine daire çizildi. Bu işlem dokuların kurummasını engellemek ve uygulanacak maddelerin lam üzerinde dağılmasını engellemek amacıyla yapıldı. Üzerine PBS (fosfat tampon soüsyonu ) damlatıldı ve PBS'le 5 dakika boyunca 3 kez yıkama yapıldı. Kesitler %3 Hidrojen Peroksidazda (DBS Kat No: K033 Pleasanton-CA) 5 dakika tutuldu. Ardından tekrar PBS'le 5 dakika boyunca 3 kez yıkama gerçekleştirildi. Sonra kesitlerin üzerine Bloking solüsyonu (Zymed Kat No:85-9043 USA) damlatıldı ve 1 saat bekletildi. Her bir doku örneği 1/100 dilüsyonda primer antikorlar [ROR gamma antibody, (ab13114), Rabbit polyclonal to ROR gamma, Abcam, USA), CD4 (sc-70660,Santa Cruz Biotechnology, CA, USA), CD17 (MCA721-Serotec Oxford, OX5 1GE, UK), CD3 (sc-59010,Santa Cruz Biotechnology, CA, USA), GATA3 (sc-268,Santa Cruz Biotechnology, CA, USA), Foxp3 (sc-80792,Santa Cruz Biotechnology, CA, USA), Tbet (sc-21003,Santa Cruz Biotechnology, CA, USA)] ile muamele edildi ve bir gece bekletildi. Ardından tekrar PBS'le 5 dakika boyunca 3 kez yıkama gerçekleştirildi. Sonra 30 dakika süreyle biyotinlenmiş sekonder antikor (Zymed Histostain- Plus Broad Spectrum Kat No:85-9943 SouTH San Francisco) uygulandı. Sonra yine PBS'le 5 dakika boyunca 3 kez yıkama gerçekleştirildi. Sonra peroksidaz enzimi ile işaretli avidin-biyotin kompleksi (streptavidin) 30 dakika uygulandı. Sonra PBS'le 5 dakika boyunca 3 kez yıkama gerçekleştirildi. Sonra immünoreaktiviteyi saptamak için kesitler diaminobenzidin (DAB) (Kat. No: 1718096 Roche İndianapolis USA) ile boyandı ve sonra Mayers hematoksilen (JTBaker Kat No:2810 Holland) ile 1-2 dakika süreyle zıt boyama yapıldı. Sonra distile su ile yıkandı. Sonra her biri 2 dakika süren, sırasıyla %80 ve %90 konsantrasyonlarındaki etil alkol ile muamele edildi. Ardından 30 dakika boyunca ksilen'de tutuldu ve sonra Entellan (SurgipaTH Kat No: 16125 USA) ile kapatıldı. Örnekler Olympus BX-40 ışık mikroskobu ile (Olympus, Center Valley,

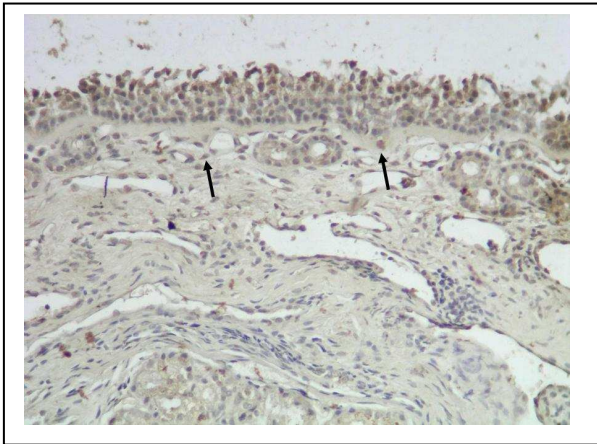
Pennsylvania) iki histolog tarafından incelendi. İncelenen örneklerdeki primer antikorlar için pozitif bulgu olan boyanma yoğunluğu [intensiteler 0 (boyama yok), +1 (zayıf boyama), +2 (belirgin boyama) ve +3 (çok güçlü boyama)], olarak değerlendirildi. İmmünohistokimyasal boyama için negatif kontroller de primer antikor ile muamele edildi. Her bir olgu için rastgele seçilen 6 alan skorlandı ve seçilen hücrelerin oranı büyük büyütmede saptandı. Her bir grup için x400 alanda en azından 100 hücre skorlandı. Bütün kesitler, semikantitatif tarzda her bir yoğunluktaki boyanan hücrelerin yüzdesi ve yoğunluğu göz önüne alınarak skorlandı. Pozitif boyanan hücrelerin yüzdesi için %10 gruplar kullanıldı (Resim1,2,3,4,5,6,7,8,9,10).



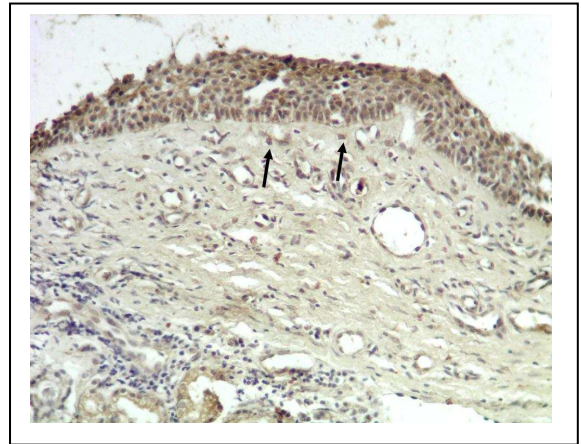
**Resim 1.** Nazal mukozanın yalancı çok katlı prizmatik epitel ile örtülü olduğu, lamina poprianın (LP) ve epitelyum içerisinde çok sayıda lenfositik infiltrasyon (Oklar) görülmektedir. D: Kan damarı, B. Bez Hematoksilen Eozin. Orjinal büyütme X200. (Hasta)



**Resim 2.** Nazal mukozanın çok katlı yalancı çok katlı prizmatik epitel (E) ile örtülü olduğu görülmektedir. Epitelin altında kollagen liflerden ve hücrelerden oluşan lamina propria (LP) bulunmaktadır. Lamina propriada çok sayıda kan damarı (D) ve bez yapılar (B) gözlenmektedir. Hematoksilen Eozin. Orjinal büyütme X200. (Kontrol)

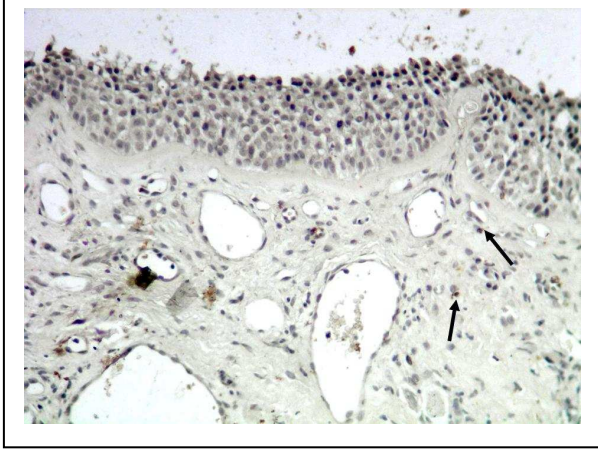


**Resim 3.** İmmunohistokimyasal teknikle boyanmış seri kesit örneklerinde az sayıda Fox pozitif hücreler (oklar) görülmektedir. Orjinal büyütme X200. (Hasta)

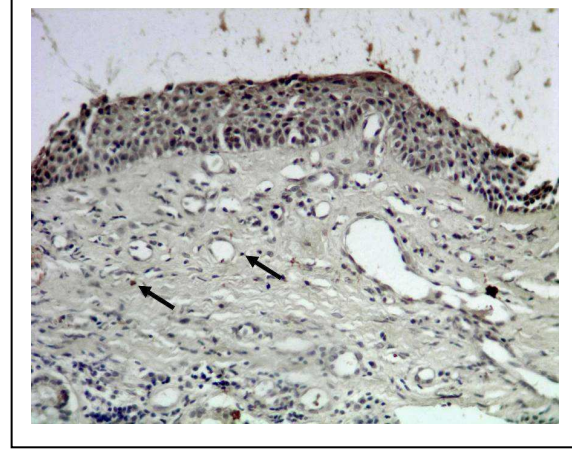


**Resim 4.** İmmunohistokimyasal teknikle boyanmış seri kesit örneklerinde FOX pozitif hücreler (oklar) görülmektedir. Orjinal büyütme X200. (Kontrol)

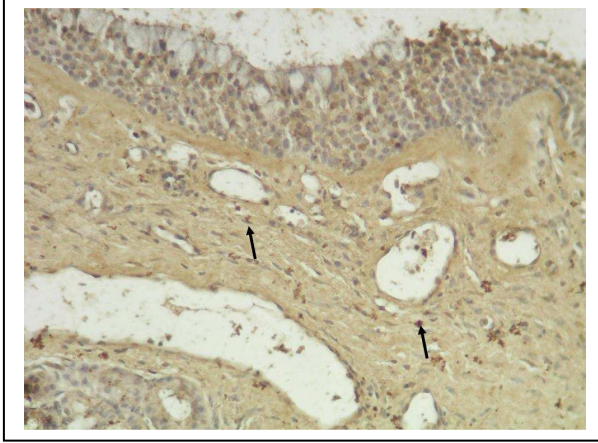




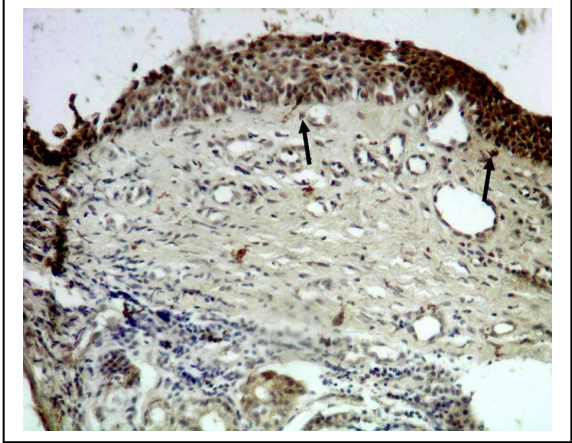
**Resim 5.** İmmunohistokimyasal teknikle boyanmış seri kesit örneklerinde az sayıda GATA pozitif hücreler (oklar) görülmektedir. Orjinal büyütme X200. (Hasta)



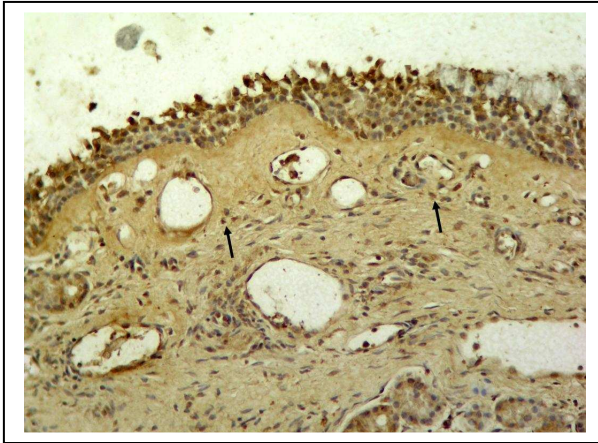
**Resim 6.** İmmunohistokimyasal teknikle boyanmış seri kesit örneklerinde çok sayıda GATA pozitif hücreler (oklar) görülmektedir. Orjinal büyütme X200. (Kontrol)



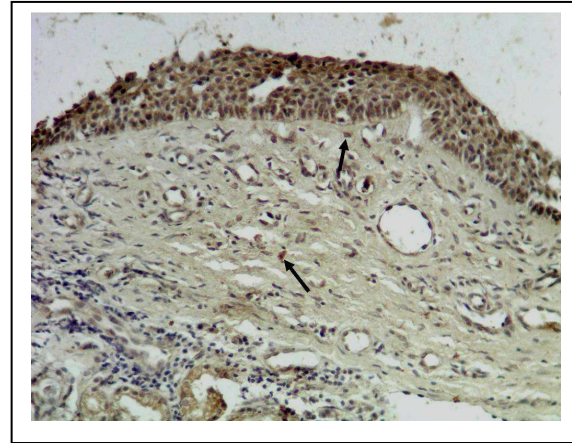
**Resim 7.** İmmunohistokimyasal teknikle boyanmış seri kesit örneklerinde az sayıda ROR gama pozitif hücreler (oklar) görülmektedir. Orjinal büyütme X200. (Hasta)



**Resim 8.** İmmunohistokimyasal teknikle boyanmış seri kesit örneklerinde çok sayıda ROR gama pozitif hücreler (oklar) görülmektedir. Orjinal büyütme X200. (Kontrol)



**Resim 9.** İmmunohistokimyasal teknikle boyanmış seri kesit örneklerinde az sayıda T bet pozitif hücreler (oklar) görülmektedir. Orjinal büyütme X200. (Hasta)



**Resim 10.** İmmunohistokimyasal teknikle boyanmış seri kesit örneklerinde çok sayıda T bet pozitif hücreler (oklar) görülmektedir. Orjinal büyütme X200. (Kontrol)

## **HSCORE Hesaplanması**

Her bir preparat boyanma derecelerine göre intensitesi 1 (zayıf), 2 (orta) ve 3 (kuvvetli) olarak değerlendirildi. Boyanan hücre sayısı % olarak belirlendi ve elde edilen değerler aşağıdaki formüle yerleştirilerek her olgunun histokimyasal skoru (HSCORE) elde edildi (101).

$$\text{HSCORE} = \sum P_i (i+1)$$

i : Boyanma intensitesi (yoğunluğu) (zayıf 1, orta 2, kuvvetli 3)

Pi : Boyanmış hücre sayısı(%0-%100).

HSCORE mevsimsel AR' li hastalarda daha önce yapılmış olan çalışmalarda da kullanılmıştır (102,103).

## **İstatistiksel Analiz**

İstatistiksel analiz, SPSS istatistik programında, Windows için 10.0 versiyonunda yapıldı. AR ve kontrol grubunda, ELİSA yöntemi ile elde edilen sitokin sonuçlarının birey temelli ortalamalarının karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi, immunohistokimyasal boyama ile elde edilen HSCORE' ların alan temelli ortalamalarının karşılaştırılmasında Student t testi kullanıldı. P < 0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## V. BULGULAR

Mevsimsel AR'li hasta grubundaki IL-23 ve IFN-gama düzeyleri sağlıklı kontrol grubundaki olgulardan anlamlı olarak daha düşük bulundu (sırasıyla  $p = 0.006$ ,  $p = 0.008$ ) (Şekil 5). İki grup arasında IL-4, IL-10, IL-17 ve TGF-beta düzeyleri anlamlı fark göstermedi (sırasıyla  $p = 0.4$ ,  $p = 0.07$ ,  $p = 0.4$ ,  $p = 0.3$ ). IFN-gama/IL-4 oranı mevsimsel AR' li hastalarda anlamlı olarak daha düşük idi ( $p = 0.03$ ) (Şekil 6). Ancak, TGF-beta/IL-4 ve IL-17/IL-4 oranları iki grup arasında fark göstermedi (sırasıyla  $p = 0.07$ ,  $p = 0.4$ ) (Tablo 4).

**Tablo 4.** Çalışma grubundaki olguların sitokin düzeyleri

Sitokinler	AR' li hasta grubu (n=41)	Kontrol grubu (n=15)	p
IL-4 (pg/ml)	1.03 ± 0.93	0.74 ± 0.50	0.4
IL-10 (pg/ml)	0.39 ± 0.27	0.33 ± 0.31	0.07
IL-17 (pg/ml)	76.48 ± 21.76	81.88 ± 44.24	0.4
IL-23 (pg/ml)	8.08 ± 7.14	17.55 ± 16.53	<b>0.006</b>
TGF-Beta (pg/ml)	0.40 ± 0.33	0.54 ± 0.41	0.3
IFN-Gama (pg/ml)	52.96 ± 22.04	78.47 ± 40.00	<b>0.008</b>
IFN $\gamma$ / IL-4	77.58 ± 57.54	139.65 ± 100.15	<b>0.03</b>
TGF-Beta / IL-4	0.59 ± 0.46	0.83 ± 0.53	0.07
IL-17 / IL-4	122.64 ± 84.45	144.50 ± 111.16	0.4

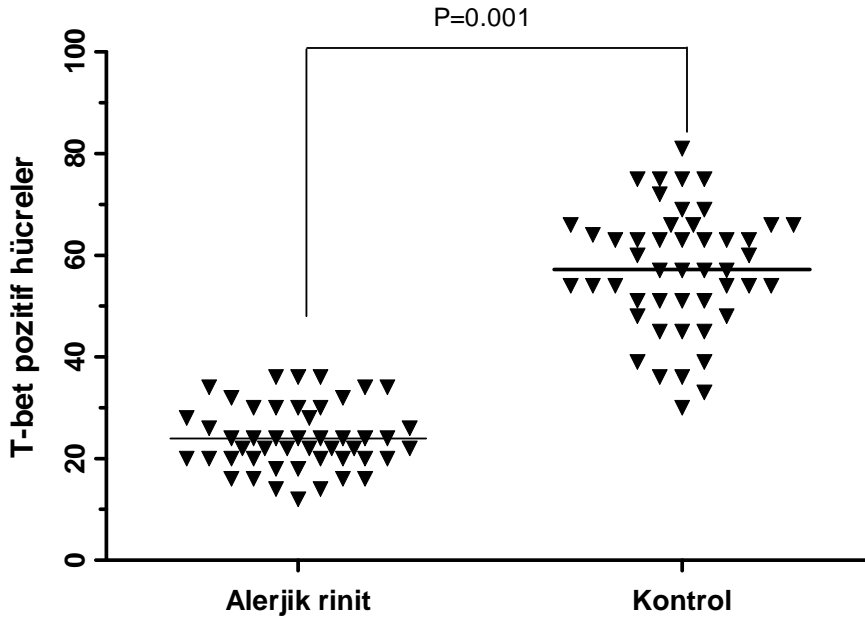


Çalışmamızda immünohistokimyasal teknik ile boyanan nazal doku örneklerinden elde edilen CD-3, CD-4, CD-17, FOXP3 ve T-bet' e ait HSCORE' ları AR' li hastalarda sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük idi (tümü için  $p = 0.001$ ) (Şekil 7,8). İki grup arasında GATA-3 ve ROR-gama' ya ait HSCORE' ları anlamlı fark göstermedi (sırasıyla  $p = 0.2$ ,  $p = 0.9$ ). T-bet/GATA-3 ve FOXP3/GATA-3 oranları mevsimsel AR'li hastalarda anlamlı olarak daha düşük bulundu (her ikisi için  $p = 0.001$ ) (Şekil 9,10). Ancak, ROR-gama/ GATA-3 oranı iki grup arasında fark göstermedi ( $p = 0.3$ ) (Tablo 5).

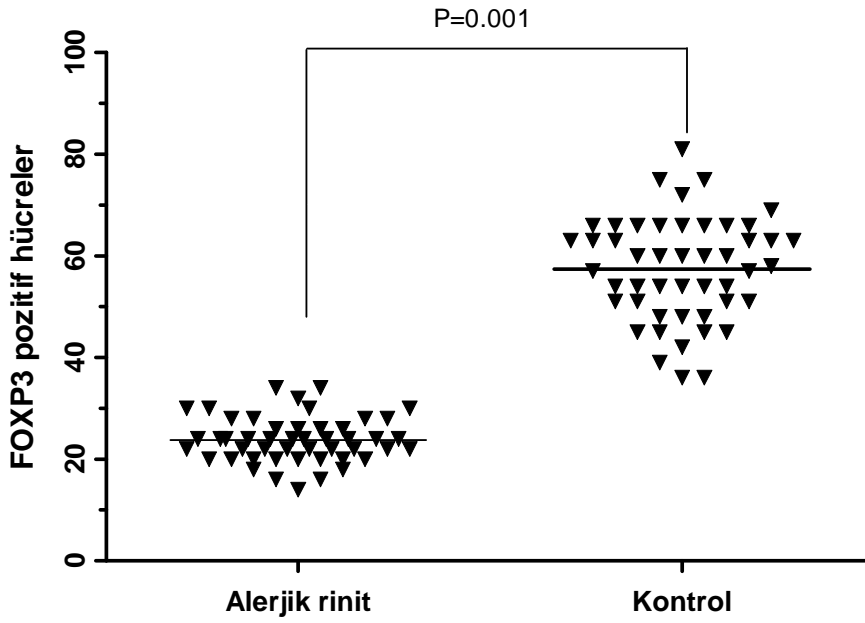
**Tablo 5.** İmmünohistokimyasal teknik ile boyanan nazal doku örneklerinden elde edilen HSCORE değerleri

	AR' li hasta grubu (n=8)	Kontrol grubu (n=8)	p
CD-3	34.04 ± 7.58	62.22 ± 11.23	<b>0.001</b>
CD-4	22.25 ± 4.29	38.87 ± 10.31	<b>0.001</b>
CD-17	27.54 ± 6.61	32.12 ± 6.31	<b>0.001</b>
ROR-gama	55.87 ± 11.18	55.79 ± 10.31	0.9
T-bet	23.91 ± 6.31	57.20 ± 11.96	<b>0.001</b>
FOXP3	23.75 ± 4.49	57.39 ± 10.25	<b>0.001</b>
GATA-3	30.50 ± 7.65	32.25 ± 6.71	0.2
Tbet / GATA-3	0.82 ± 0.27	1.83 ± 0.51	<b>0.001</b>
FOXP3 / GATA-3	0.81 ± 0.22	1.84 ± 0.46	<b>0.001</b>
ROR-gama / GATA-3	1.97 ± 0.74	1.84 ± 0.60	0.3

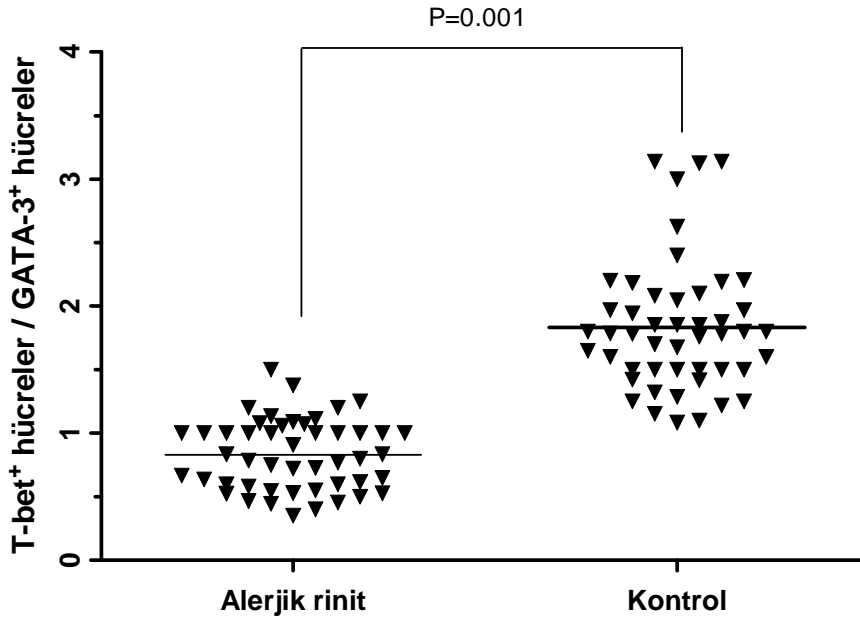




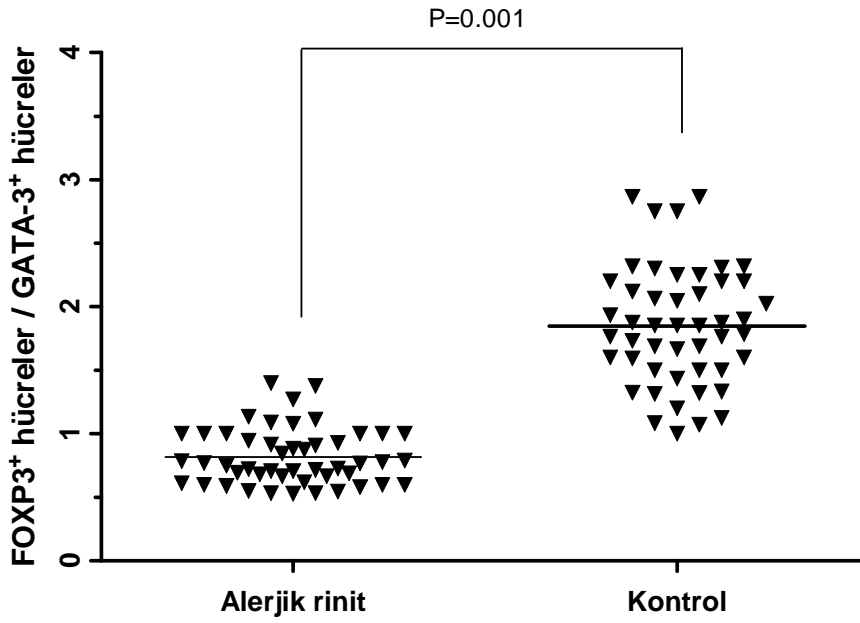
Şekil 7. Hasta ve kontrol grubundaki T-bet pozitif hücreler.



Şekil 8. Hasta ve kontrol grubundaki FOXP3 pozitif hücreler.



**Şekil 9.** Hasta ve kontrol grubundaki T-bet<sup>+</sup> hücre/GATA-3<sup>+</sup> hücre oranı.



**Şekil 10.** Hasta ve kontrol grubundaki FOXP3<sup>+</sup> hücre/GATA-3<sup>+</sup> hücre oranı.

## VI. TARTIŞMA

Biz bu çalışmada, zeytin polen duyarlılığı olan AR' li hastaların nazal mukozasında FOXP3 ve T-bet hücrelerinin ekspresyonunun sağlıklı kontrollere göre azaldığını, ROR-gama ve GATA-3 ekspresyonunun her iki grupta benzer olduğunu bulduk. Ayrıca, AR'li hastalardaki IFN- $\gamma$  ve IL-23 sitokin düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre daha düşük olduğunu belirledik.

CD4<sup>+</sup> T hücreleri, farklı diferansiasyon profiline ve fonksiyonel özelliğe sahip olan alt gruplara ayrılabilir. TH1, TH2, ve Treg üç major T lenfosit alt grubudur ve bunların her biri diğerinin fonksiyonunu etkileyebilir. Yeni keşfedilen bir T hücre alt grubu olan TH17' nin otoimmün enflamatuvar hastalıklarda ve alerjik hastalıklarda rol oynayabileceği ileri sürülmektedir. T hücre alt grupları transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonu ile tanınır. TH1, TH2, TH17 ve Treg hücrelerinin transkripsiyon faktörleri sırasıyla T-bet, FOXP3, GATA-3 ve ROR-gama' dır (4,5,6,7). TH1 hücreleri IFN- $\gamma$ , TH2 hücreleri IL-4, Treg hücreleri IL-10 ve TGF- $\beta$ , TH17 hücreleri de IL-17 sitokini sekrete eder (104).

Alerjik hastalıklar TH2 immün yanıtı ile karakterize olan hastalıklardır. Treg hücrelerinin, TH2 aracılı immün yanıtı baskılayarak alerjik hastalıkları önlediği ileri sürülmektedir (105). FOXP3, Treg hücreleri tarafından eksprese edilen özel bir markırdır ve Treg hücreleri için "master switch" genidir. FOXP3, Treg hücrelerinin aktivitesini ve düzeyini belirler. FOXP3 ekspresyonu otoimmünite, transplantasyon ve alerji ile yakından ilişkilidir (106). Son yıllarda yapılan birçok çalışmada, AR ve astımda Treg hücreleri ve FOXP3'nin rolü incelenmiştir. Bu çalışmaların çoğunda atopik hastaların daha düşük FOXP3 ve Treg hücrelerine sahip olduğunu ve Treg hücrelerinin bu hastalarda daha az supresif etki gösterdiğini bulmuştur. Bu da, AR ve astımda daha fazla enflamasyona ve semptomlara neden olur. Nonatopik hastalarda, Treg hücreleri etkin bir şekilde TH2 yanıtını baskıladığı için alerjik hastalık görülmez. Xu ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada AR'li ve AR'li olmayan hastaların nazal dokuları karşılaştırılmış ve AR' li hastalarda FOXP3 (+) lenfosit sayısının ve FOXP3 mRNA ekspresyonunun azaldığını bulmuşlardır (11). Bu sonuç, Treg hücrelerinin supresif aktivitesinin FOXP3' nin ekspresyon ve sayısındaki azalmaya bağlı olarak

bozulduğunu göstermektedir. Yakın zamanda yapılan başka bir çalışmada, Lee ve ark. AR'li hastaların nazal sekresyonlarında FOXP3 mRNA'yı nonalerjik kontrollere göre daha düşük bulmuşlar ve ayrıca hem AR'li hem de astımlı hastalarda FOXP3 geninde bir nokta mutasyonu olduğunu göstermişlerdir (107). FOXP3, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg hücrelerinin özel yolağı molekülü olduğu için FOXP3' deki azalma Treg hücrelerinde azalma anlamına gelmektedir. Azalan FOXP3 gen ekspresyonu ya da bozulan FOXP3 fonksiyonları potansiyel olarak insanlardaki alerjik hastalıkların gelişiminden sorumlu tutulmuştur. Dolayısıyla, Treg hücrelerindeki yetersizlik ya da fonksiyon bozukluğu, antijen maruziyeti ile ortaya çıkan daha sağlam TH2 hücre aktivasyonu ve onun neden olduğu atopik yanıtla ilişkilidir. Malmhäll ve arkadaşları tarafından çimen (grass) polen duyarlılığı olan AR'li hastaların nazal biyopsi örnekleri alınmış ve polen mevsimi öncesi AR'li hastalardaki FOXP3 hücre sayısı sağlıklı kontrollere göre daha yüksek saptanmıştır. Aynı çalışmada polen mevsiminde AR' li hastaların bir grubuna plasebo, diğer grubuna ise flutikazon propionat tedavisi verilmişti. Nazal mukozadaki FOXP3 hücre sayısı plasebo alan grupta polen mevsimi öncesi ile kıyaslandığında değişmezken, flutikazon propionate alan grupta azalmıştı (12).

Hartl ve ark. astımlı çocukların bronkoalveolar lavaj sıvılarında Treg hücrelerinin azaldığını bulmuşlardır. Aynı çalışmada, astımlı olmayan çocuklarda Treg hücrelerinin pulmoner TH2 hücreleri tarafından gerçekleştirilen sitokin üretimi ve proliferasyon sürecinin baskılandığını, astımlı çocuklarda ise bu baskılanmanın olmadığını göstermişlerdir. İn hale kortikosteroidler bu supresif kapasiteyi restore etmişti (108). Bu, Treg hücre fonksiyonunun astımlı çocuklarda lokal olarak bozulduğunu gösteren güçlü bir bulgudur. Başka bir araştırmada, alerjik rinit ve astımın şiddeti ile FOXP3 ve Treg hücreleri arasında korelasyon bulunmuştur (109). Burada, Treg hücre sayısı ve FOXP3 mRNA ekspresyonu astımlı ve AR'li çocuklar ile astım ve AR' i olmayan çocuklarla karşılaştırılmış ve alerjik hastalığı olan çocuklarda kontrollere kıyasla Treg hücre sayısı, önceki literatür bulgularını destekler nitelikte daha düşük bulunmuştur (110-112). Aynı çalışmada, persistan AR ve/veya orta – şiddetli astımlı çocuklarda hafif astımlı çocuklara kıyasla Treg hücrelerinin daha yüksek olduğu ileri sürülmüştür. Ayrıca, orta ve şiddetli astımda hafif astıma kıyasla FOXP3 mRNA ekspresyonu anlamlı olarak artmıştı. Sonuç olarak, alerjik hastalığın şiddeti arttıkça immün yanıtın bir sonucu olarak alerjik enflamasyonun alevlenme

döneminde üretilen indüklenmiş ya da adaptif Treg hücrelerinden kaynaklanan supresif Treg hücreleri ve FOXP3 ekspresyonunun arttığı ileri sürülmüştür (109).

Sağlıklı kişilerde Treg ağırlıklı immün yanıt antijenlere karşı toleransa ve başarılı alerjen-spesifik immünoterapiye neden olur. Treg hücrelerinden salınan IL-10 ve TGF- $\beta$  bir yandan alerjik yanıtta rolü olan IgE üretimini baskımlarken, diğer yandan IgG4 ve IgA gibi enflamatuvar olmayan immünglobulin izotiplerini indüklerler. Mast hücreleri, bazofiller ve eozinofil gibi alerjik enflamasyonun efektör hücreleri IL-10 ve TGF- $\beta$  tarafından direkt olarak suprese edilmektedir (113). İnsanlarda IL-10, Treg hücreleri yanında monositler, B lenfositleri ve dentritik hücrelerden de salınmaktadır (114). Bir çalışmada, astımlı hastaların bronkoalveolar lavaj sıvısındaki IL-10 düzeyinin sağlıklı kişilere göre daha düşük olduğu bulunmuştur. Ayrıca, astımlı çocuklarda T hücreleri sağlıklı kişilere göre daha düşük IL-10 mRNA eksprese etmiştir (115). Başka bir çalışmada ise alerjik rinitli hastalarda polen mevsiminde yapılan incelemede IL-10 düzeyinin AR' li hasta grubunda arttığı, TGF- $\beta$  düzeyinin ise sadece normal kişilerde artış gösterdiği bulunmuştur (116).

Biz, zeytin poleni mevsiminde bir Treg hücre markırı olan FOXP3 hücre sayısını ve FOXP3/GATA3 oranını zeytin polen alerjisi olan AR' li hastalarda, alerjik olmayan sağlıklı kontrollere göre daha düşük bulduk. Ayrıca, AR' li hasta grubundaki TGF- $\beta$  ve IL-10 düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre benzer olduğunu gözlemledik. Bu sonuç, AR'li hastalarda Treg hücrelerinin supresif fonksiyonunun azaldığına işaret edebilir.

TH2 hücrelerinin eksprese ettiği transkripsiyon faktörü GATA-3' ün TH1 sitokin üretimini inhibe ettiği bildirilmektedir (117). Bir çalışmada, polen mevsiminde ve polen mevsimi dışında AR' li hastaların nazal mukozasında T-bet hücre sayısının değişmediği, ancak polen mevsiminde T-bet/GATA-3 oranının azaldığı ileri sürülmüştür (12). Başka bir çalışmada ise astımlı hastaların bronş mukozasında T-bet sayısının daha düşük olduğu bildirilmiştir (9). Bizim çalışmamızda, zeytin polen duyarlılığı olan AR' li hastalarda polen mevsiminde nazal doku örneklerindeki T-bet hücre sayısı ve nazal lavaj sıvısındaki IFN- $\gamma$  sitokin düzeyi azalmıştı. Ayrıca, AR' li hastalardaki IFN- $\gamma$ /IL-4 ve T-bet/GATA-3 oranları da sağlıklı kontrollere göre daha düşüktü. Bu da bize AR'li hastaların nazal mukozasında polen mevsiminde TH1 hücre yanıtının azaldığını göstermektedir.

Astımlı hastaların bronş biyopsilerinde GATA-3 hücrelerinin varlığı yanında alerjen provakasyonu sonrası nazal mukozada GATA-3 mRNA pozitif hücre sayısının da arttığı ileri sürülmüştür (8,118,119). Bu bulguları destekler biçimde, son zamanlarda yapılan başka bir çalışmada da, polen mevsiminde AR' li hastaların nazal mukozasında GATA-3 hücre sayısının arttığı ileri sürülmüştür (12). Bizim çalışmamızda, TH2 markırı olan GATA-3 ile TH2 hücreleri tarafından salınan IL-4 düzeyleri AR' li hastalarda non-alerjik sağlıklı kontrollere göre anlamlı olmasa da daha yüksek düzeyde idi. Ayrıca, FOXP3/GATA-3 ve T-bet/GATA-3 oranları AR'li hastalarda sağlıklı kişilere göre daha düşüktü. Bizim elde ettiğimiz bu sonuçlara göre, AR'li hastaların nazal mukozasında polen mevsiminde GATA-3 ve T-bet hücre sayısındaki azalmaya ilaveten TH1/TH2 ve Treg/Tefektör hücre dengesinin de düşük bulunması TH1 yanıtının azaldığına, Treg'in inhibitör yanıtının da bu hastalarda eksik olduğuna işaret etmektedir. Nitekim bizim sonuçlarımıza benzer şekilde, Malmhäll ve ark. tarafından yapılan çalışmada, nazal mukoza örneklerinde supresör Treg yanıtının göstergesi olan FOXP3 hücre sayısının polen mevsiminde TH2 yanıtının göstergesi olan GATA-3 ile aynı derecede artış göstermediği ve dolayısıyla bunun da AR' li hastalarda Treg hücrelerinin inhibitör yanıtındaki eksikliğe bağlı olabileceği ileri sürülmüştür (12).

TH17 diğer T hücre alt grupları gibi sitokin salınımı yapar. TH17 hücrelerinden salınan IL-17 proenflamatuvar sitokinler ve kemokinleri (IL-6, TNF- $\alpha$  ve IL-8 gibi) indükleyerek doku enflamasyonunu koordine eder (120). TH17 hücrelerinin romatoid artrit, multiple skleroz, gibi birçok otoimmün hastalıkta önemli rol oynadığı ileri sürülmektedir (121,122). Ayrıca, TH17' nin alerjide ve astımda da rol aldığını ileri süren çalışmalar vardır (79,123,124). İnsan TH17 hücre gelişiminden sorumlu etkenler kesin olarak bilinmemekle birlikte, experimental hayvan modellerinde TGF- $\beta$  ve IL-6' nın naive T hücrelerinden TH17 hücrelerinin diferansiyasyonunu başlattıkları ileri sürülmektedir. Bu süreç TNF- $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  tarafından da artırılmaktadır. Aktive olmuş dentritik hücrelerden salınan IL-23, aktive olmuş memory T hücre havuzundaki IL-17 üreten hücrelerin proliferasyonunu sağlar. Böylece IL-23, TH17 fenotipinin survival ve ekspansiyonunda önemli bir yere sahiptir (69,76,125,126). TGF- $\beta$ , IL-6 ve IL-1 TH17 hücrelerinden ROR $\gamma$ t ekspresyonuna da yol açmaktadırlar (104).

İnsan TH17 hücrelerinin gelişimi için gerekli faktörler literatürde tartışılmaktadır. Son zamanlarda insanlarda yapılan bir çalışmada, insan bronşiyal

epitel hücrelerinde TGF- $\beta$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 ve IL-23' ün fonksiyonel TH17 efektör popülasyonunun gelişimi ve IL-17' nin etkin üretimi için gerekli olduğu bulunmuştur (127). İnsanda TGF- $\beta$ , TH17' den IL-17 indüksiyonunda önemli bir role sahiptir. Ancak burada, TGF-  $\beta$ ' nin uygun konsantrasyonda olması çok önemlidir. Çünkü, TGF- $\beta$ ' nin yüksek konsantrasyonda olması IL-17' yi baskılar. TGF- $\beta$ , TH17' nin gelişiminin başlangıç aşamasında etkili olabilir, ancak daha sonraki evrelerde IL-17 üretimini inhibe edebilir. Nötralize edici antiTGF- $\beta$  antikollarının kültür ortamında naive T hücrelerinden IL-17 üretimini azaltması, ancak memory hücrelerindeki IL-17 üretimini etkilememesi bu görüşü destekler niteliktedir (127). Başka bir çalışmada da, TGF- $\beta$ 'nin memory hücrelerinde IL-17 indüksiyonu için gerekli olmadığı ileri sürülmüştür (128).

Deneyisel hayvan çalışmalarında, TH17 hücre yolağını tanımlayan transkripsiyon faktörünün ROR $\gamma$ t olduğu bildirilmiştir (129). İnsanda yapılan çalışmalarda da, TH17 hücrelerinin ROR $\gamma$ t' yi eksprese ettiği bildirilmiştir (7,130).

Klemens ve ark. AR' li ve viral rinitli hastaların nazal sekresyonlarında IL-17 düzeyini incelemişler ve sadece viral rinitli hastaların nazal sekresyonlarında IL-17' nin artış gösterdiğini bulmuşlardır (131). Başka çalışmalarda astımlı hastaların havayollarında ve plazmalarında IL-6 ve IL-17' nin arttığı bildirilmiştir (132,133). Ancak, Lei ve ark. astımlı hastaların serumlarında IL-17 düzeyinin sağlıklı kontrol grubu ile aynı olduğunu ileri sürmüştür (134). Ciprandi ve ark. ise birch polen alerjisi olan AR'li hastalarda, polen mevsimi dışında IL-17 düzeyinin arttığını göstermişlerdir (18). Bizim çalışmamızda, zeytin polen alerjisi olan AR' li hastalarda TGF- $\beta$ , ROR $\gamma$  ve IL-17 düzeyi nonalerjik sağlıklı kontrol grubu ile benzerlik gösterdi. Ancak, IL-23 düzeyi polen alerjisi olan AR'li hastalarda anlamlı olarak daha düşüktü. Nazal lavaj sıvısında IL-23 düzeyinin düşük olmasına rağmen, IL-17 düzeyinin her iki grupta benzer olması, IL-17' nin yapımında rol oynayan başka bir faktörün indükleyici etkisi ile açıklanabilir.

## VII. SONUÇLAR

Sonuç olarak polen mevsiminde, zeytin polen duyarlılığı olan AR'li hastaların nazal mukozasında atopik duyarlılık için kabul edilmiş olan T lenfosit diferansiasyon durumu ile TH17 aktivasyon durumunu değerlendirdik. Bizim sonuçlarımızda AR'li olgularda FOXP3 ve T-bet hücrelerinin ekspresyonu sağlıklı kontrollere göre azalırken, GATA-3 düzeyi değişmedi. Ayrıca, AR'li hastalardaki IFN- $\gamma$  düzeyi azalırken, IL-4, IL-10 ve TGF- $\beta$  düzeyleri değişiklik göstermedi. Bu sonuçlar bize, AR'li hastalarda polen mevsiminde TH1 ağırlıklı immün yanıtın ve Treg hücrelerinin süpresif etkisinin azaldığını göstermektedir. Her ne kadar, TH2 ağırlıklı immün yanıtı gösteren GATA-3 ekspresyonu ve IL-4 düzeyi AR'li hastalarda sağlıklı kontrollere göre benzerlik gösterse de, Tbet/GATA-3 ve FOXP3/GATA-3 oranlarının AR'li hastalarda anlamlı olarak düşük bulunması, bu hastalarda oransal olarak TH2 yanıtının artışına işaret edebilir.

Öte yandan, TH17 hücre diferansiasyonunda gerekli olan TGF- $\beta$ , TH17 transkripsiyon faktörü olan ROR $\gamma$  ve TH17 tarafından IL-23' ün etkisiyle üretilen IL-17 düzeyinin AR'li hasta ve kontrol grubunda benzer bulunması AR'li hastalarda polen mevsiminde TH17 ağırlıklı immün yanıtın değişmediğini akla getirmektedir. Ayrıca AR'li hastalarda polen mevsiminde IL-23 düzeyinin anlamlı olarak düşük bulunmasına rağmen, IL-17 düzeyinin hasta ve kontrol grubunda benzerlik göstermesi, dokuda IL-17 sekresyonu yapabilen bir başka kaynak tarafından kompanse edildiğini de düşündürmektedir. Ayrıca da atopik diferansiasyonda klasik olarak bilinen TH2 polarizasyonunda TH17' nin regülatuar rol oynayabileceğini akla getirmektedir.



## VIII. ÖZET

IL-17 üreten TH17 hücreleri TH1, TH2 ve T-regulatuvar hücrelerden farklı yeni bir efektör T hücre alt grubudur. TH17 hücrelerinin otoimmün hastalıklarda ve alerjik hastalıklarda rol oynadığı düşünülmektedir. Treg, TH1, TH2 ve TH17 hücreleri sırasıyla FOXP3, GATA-3, T-Bet ve ROR $\gamma$  tarafından regüle edilmektedir. Bizim amacımız TH17 ve IL-17' nin zeytin polen duyarlılığı olan alerjik rinitli hastalardaki rolünü incelemektir.

Zeytin polen mevsiminde, sağlıklı kontrollerden ve zeytin polen duyarlılığı olan alerjik rinitli hastalardan nazal biyopsi ve nazal lavaj sıvı örnekleri alındı. Nazal lavaj sıvı örneklerinde IL-4, IL-10, IL-17, IL-23, IFN- $\gamma$  ve TGF- $\beta$  çalışıldı. Nazal biyopsi örneklerinde immünohistokimyasal yöntemle FOXP3, GATA-3, T-Bet ve ROR $\gamma$  kantite edildi.

AR' li hastaların nazal mukozasında FOXP3 ve T-bet hücrelerinin ekspresyonu sağlıklı kontrollere göre azalırken, GATA-3 ve ROR $\gamma$  düzeyi değişmedi. Ayrıca, AR'li hastalardaki IFN- $\gamma$  ve IL-23 düzeyi azalırken, IL-4, IL-10, IL-17 ve TGF- $\beta$  düzeyleri değişiklik göstermedi. Tbet/GATA-3 ve FOXP3/GATA-3 oranları AR' li hastalarda anlamlı olarak düşük bulundu.

Sonuç olarak, AR' li hastalarda polen mevsiminde TH1 ve Treg hücre yanıtı azalmakta, TH2 yanıtı oransal olarak artış göstermektedir. Ayrıca, AR'li hastalarda TH17 hücre diferansiasyonu ve IL-17 düzeyi değişmemektedir. Ancak AR' li olgularda IL-17 sekresyonundan sorumlu olan IL-23 kontrol grubuna göre azalırken IL-17' nin düşük bulunmaması dokuda bir başka IL-17 salgılatan kofaktör olabileceğini düşündürmektedir. Bu sonuç da atopik diferansiasyonda klasik olarak bilinen TH2 polarizasyonunda TH17' nin regülatuvar rol oynayabileceğini akla getirmektedir.

## IX. SUMMARY

IL-17 producing TH17 cells are new subset of effector T cells apart from TH1, TH2 and T regulatory cells. It is suggested That They have a role in autoimmune and allergic diseases. Treg, TH1, TH2, and TH17 cells are regulated by FOXP3, GATA-3, T-Bet, and ROR $\gamma$  respectively. Our aim was to evaluate THE role of TH-17 and IL-17 in patients wiTH allergic rhinitis having olive pollen sensitivity.

In olive pollen season , nasal biopsy and nasal lavage fluid samples were taken from allergic rhinitis patients wiTH olive pollen sensitivity and healthY control patients. In nasal lavage fluid samples IL-4, IL-10, IL-23, IFN-  $\gamma$  and TGF-  $\beta$  was studied. In nasal biopsy samples FOXP3, GATA-3, T-Bet, and ROR $\gamma$  were quantified by immunohistochemical meTHods.

In patients wiTH allergic rhinitis while FOXP3 and T-bet cell expression were found to be decreased in nasal mucosa, There were no difference in GATA-3 and ROR  $\gamma$  levels when compared to healthY control patients. In addition, while IFN- $\gamma$  and IL-23 levels were low in allergic patients, IL-4, IL-10, IL-17 and TGF- $\beta$  levels did not change. Tbet/GATA-3 ve FOXP3/GATA-3 ratios were significantly low in AR patients.

In conclusion, TH1 and Treg cell response is reducing, and TH2 response is showing increment in certain proportion in AR patients during pollen season. Also TH-17 cell differentiation and IL-17 levels are not changing in allergic rhinitis patients. But because in AR patients IL-23 levels, which is responsible for IL-17 secretion, were found to be decreased compared to control group, it suggests that another co-factor causing IL-17 secretion may be present. This result suggests that TH17 may have regulatory role in TH2 polarization which was already known in atopic differentiation.

## X. KAYNAKLAR

1. Jeffery PK, Haahtela T. Allergic rhinitis and asthma: inflammation in a one-airway condition. *BMC Pulm Med* 2006;6:1-5.
2. Larche M, Robinson DS, Kay AB. The role of T lymphocytes in the pathogenesis of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:450-63.
3. Schmidt-Weber CB, Akdis M, Akdis CA. TH17 cells in the big picture of immunology. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:247-54.
4. Szabo SJ, Kim ST, Costa GL, et al. A novel transcription factor, T-bet, directs TH1 lineage commitment. *Cell* 2000;100:655-69.
5. Yamashita M, Ukai-Tadenuma M, Miyamoto T, et al. Essential role of GATA3 for the maintenance of type 2 helper T (TH2) cytokine production and chromatin remodeling at the TH2 cytokine gene loci. *J Biol Chem* 2004;279:26983-90.
6. Khattri R, Cox T, Yasayko SA, Ramsdell F. An essential role for Scurfin in CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T regulatory cells. *Nat Immunol* 2003;4:337-42.
7. Annunziato F, Cosmi L, Santarlasci V, et al. Phenotypic and functional features of human TH17 cells. *J Exp Med* 2007;204:1849-61.
8. Nakamura Y, Christodoulopoulos P, Cameron L, et al. Upregulation of the transcription factor GATA-3 in upper airway mucosa after in vivo and in vitro allergen challenge. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:1146-52.
9. Finotto S, Neurath MF, Glickman JN, et al. Development of spontaneous airway changes consistent with human asthma in mice lacking T-bet. *Science* 2002;295: 336-38.
10. Bellinghausen I, Klostermann B, Knop J, et al. Human CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T cells derived from the majority of atopic donors are able to suppress TH1 and TH2 cytokine production. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:862-68.
11. Xu G, Mou Z, Jiang H, et al. A possible role of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T cells as well as transcription factor FoxP3 in the dysregulation of allergic rhinitis. *Laryngoscope* 2007;117:876-80.

12. Malmhäll C, Bossios A, Pullerits T, et al. Effects of pollen and nasal glucocorticoid on FOXP3+, GATA-3+ and T-bet+ cells in allergic rhinitis. *Allergy* 2007; 62: 1007–13.
13. Hellings PW, Kasran A, Liu Z, et al. Interleukin-17 orchestrates The granulocyte influx into airways after allergen inhalation in a mouse model of allergic asTHma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003;28:42-50.
14. Bullens DM, Truyen E, Coteur L, et al. IL-17 mRNA in sputum of asTHmatic patients: linking T cell driven inflammation and granulocytic influx? *Respir Res* 2006;7:135.
15. Dragon S, Rahman MS, Yang J, et al. IL-17 enhances IL-1beta-mediated CXCL-8 release from human airway smooTH muscle cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2007;292:1023-29.
16. van den Berg A, Kuiper M, Snoek M, et al. Interleukin-17 induces hyperresponsive interleukin-8 and interleukin-6 production to tumor necrosis factor-alpha in structural lung cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005;33:97-104.
17. Lei Z, Liu G, Huang O, Ly M, et al. SCF and IL-31 raTHer THan IL-17 and BAFF are potential indicators in patients wiTH allergic asTHma. *Allergy* 2008;63:327-32.
18. Ciprandi G, Fenoglio D, De Amici M, et al. Serum IL-17 levels in patients wiTH allergic rhinitis. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122:650-1.
19. Bousquet J, Van Cauwenberge P, Khaltaev N. Allergic rhinitis and its impact on asTHma: ARIA guidelines. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:S147– 334.
20. Hansel F. Clinical and histopaTHologic studies of The nose and sinuses in allergy. *J Allergy* 1929;1:43-70.
21. Johansson SG, Bieber T, Dahl R, et al. Revised nomenclature for allergy for global use: report of The Nomenclature Review Committee of The World Allergy Organization, October 2003. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:832–36.
22. American Academy of Allergy AsTHma and Immunology. The allergy report. Allergic disorders: promoting best practices. 2001. Available at: [www.Theallergyreport.org](http://www.Theallergyreport.org). Accessed November 12, 2004.

23. NaTHan RA, Meltzer EO, Selner JC, et al. Prevalence of allergic rhinitis in THE United States. *J Allergy Clin Immunol* 1997;99:S808–14.
24. Wright AL, Holberg CJ, Martinez FD, et al. Epidemiology of physician-diagnosed allergic rhinitis in childhood. *Pediatrics* 1994;94:895–901.
25. Skoner DP. Allergic rhinitis: definition, epidemiology, paTHophysiology, detection, and diagnosis. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108(Suppl 1):2–8.
26. Dykewicz MS, Fineman S, Nicklas R, et al. Joint task force algoriTHm and annotations for diagnosis andmanagement of rhinitis. *Ann Allergy AsTHma Immunol* 1998;81:469–73.
27. Henry M, Donald YML. Allergic Rhinitis. In Robert MK, Richard EB, Hal BJ, Bonita F ST, eds. *Nelson Textbook of Pediatrics*, 18nd ed. Philadelphia: Saunders, 2008:949-92.
28. Ober C. Susceptibility genes in asTHma and allergy. *Curr Allergy AsTHma Rep* 2001;1: 174–79.
29. Greiner AN. Allergic rhinitis: impact of THE disease and considerations for management. *Med Clin NorTH Am* 2006;90:17-38.
30. Nimmagadda SR, Evans R. Allergy: Etiology and epidemiology. *Pediatr Rev* 1999;20:111–15.
31. Leynaert B, Bousquet J, Neukirch C, et al. Perennial rhinitis: an independent risk factor for asTHma in nonatopic subjects: results from THE European Community Respiratory HealTH Survey. *J Allergy Clin Immunol* 1999;104:301–14.
32. Centers for Disease Control and Prevention. Current asTHma prevalence 2002. Available at: <http://www.cdc.gov>. Accessed February 12, 2005.
33. Wright AL, Holberg CJ, Martinez FD, et al. Epidemiology of physician-diagnosed allergic rhinitis in childhood. *Pediatrics* 1994;94:895–901.
34. Braunstahl GJ, Kleinjan A, Overbeek SE, et al. Segmental bronchial provocation induces nasal inflammation in allergic rhinitis patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:2051–57.

35. Braunstahl GJ, Overbeek SE, Kleinjan A, et al. Nasal allergen provocation induces adhesion molecule expression and tissue eosinophilia in upper and lower airways. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:469–76.
36. Shin SH, Ponikau JU, Sherris DA, et al. Chronic rhinosinusitis: an enhanced immune response to ubiquitous airborne fungi. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:1369–75.
37. Bielory LB. Allergic and immunologic disorders of The eye. Part II: Ocular allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2001;106:1019–32.
38. Hellings P, Jorissen M, Ceuppens JL. The Waldeyer's ring. *Acta Otorhinolaryngol Belg* 2000;54:237-41.
39. Huang SW, Giannoni C. The risk of adenoid hypertrophy in children with allergic rhinitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2001;87:350-55.
40. Fokkens WJ, Scadding GK. Perennial rhinitis in The under 4s: a difficult problem to treat safely and effectively ? A comparison of intranasal fluticasone propionate and ketotifen in The treatment of 2-4-year-old children with perennial rhinitis. *Pediatr Allergy Immunol* 2004;15:261-66.
41. Papatziamos G, Van Der Ploeg I, Hemlin C, et al. Increased occurrence of IgE+ and FcεRI+ cells in adenoids from atopic children. *Allergy* 1999;54:916-25.
42. Cassano P, Gelardi M, Cassano M, et al. Adenoid tissue rhinopharyngeal obstruction grading based on fiberoendoscopic findings: a novel approach to Therapeutic management. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2003;67:1303-39.
43. Teele DW, Klein JO, Rosner B. Epidemiology of otitis media during The first seven years of life in children in greater Boston: a prospective, cohort study. *J Infect Dis* 1989;160:83-94.
44. Wright ED, Hurst D, Miotto D, et al. Increased expression of major basic protein (MBP) and interleukin - 5 (IL-5) in middle ear biopsy specimens from atopic patients with persistent otitis media with effusion. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2000 ;123:533-38.

45. Nguyen LH, Manoukian JJ, Sobol SE, et al. Similar allergic inflammation in THE middle ear and THE upper airway: evidence linking otitis media wiTH effusion to THE united airways concept. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:1110-15.
46. Chantzi FM, Kafetzis DA, Bairamis T, et al. IgE sensitization, respiratory allergy symptoms, and heritability independently increase THE risk of otitis media wiTH effusion. *Allergy* 2006;61:332-36.
47. Glanville AR, Tazelaar HD, THEodore J, et al. THE distribution of MHC class I and II antigens on bronchial epiTHElium. *Am Rev Respir Dis* 1989;139:330.
48. Nonaka M, Nonaka R, Jordana M, et al. GM-CSF, IL-8, IL-1R, TNF- $\alpha$ R, and HLA-DR in nasal epiTHElial cells in allergic rhinitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:1675.
49. Papi A, Stanciu LA, Papadopoulos NG, et al. Rhinovirus infection induces major histocompatibility complex class I and costimulatory molecule upregulation on respiratory epiTHElial cells. *J Infect Dis* 2000;181:1780.
50. Salomon B, Bluestone JA. LFA-1 interaction wiTH ICAM-1 and ICAM-2 regulates TH2 cytokine production. *J Immunol* 1998;161:5138.
51. Akbari O, Umetsu DT. Role of regulatory dendritic cells in allergy and asTHma. *Curr Allergy AsTHma Rep* 2005;5:56–61.
52. Prussin C, Metcalfe DD. IgE, mast cells, basophils, and eosinophils. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:S486-94.
53. Castells M, Schwartz LB. Tryptase levels in nasal-lavage fluid as an indicator of THE immediate allergic response. *J Allergy Clin Immunol* 1988;82:348-55.
54. Rasp G, Hochstrasser K. Tryptase in nasal fluid is a useful marker of allergic rhinitis. *Allergy* 1993;48:72-74.
55. Bentley AM, Jacobson MR, CumberworTH V, et al: Immunohistology of THE nasal mucosa in seasonal allergic rhinitis: increases in activated eosinophils and epiTHElial mast cells. *J Allergy Clin Immunol* 1992;89:877-83.
56. Kepley CL, Pfeiffer JR, Schwartz LB, et al. THE identification and characterization of umbilical cord blood-derived human basophils. *J Leukoc Biol* 1998;64:474-83.

57. Gleich GJ. Mechanisms of eosinophil-associated inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:651-63.
58. Rothenberg ME. Eosinophilia. *N Engl J Med* 1998;338:1592-600.
59. Picker LJ. Control of lymphocyte homing. *Curr Opin Immunol* 1994;6:394.
60. Schmidt-Weber CB, Akdis M, Akdis CA. TH17 cells in The big picture of immunology. *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:247-54.
61. Nakamura T, Kamogawa Y, Bottomly K, et al. Polarization of IL-4- and IFN-gamma-producing CD41 T cells following activation of naive CD41 T cells. *J Immunol* 1997;158:1085-94.
62. Hwang ES, Szabo SJ, Schwartzberg PL, et al. T helper cell fate specified by kinase-mediated interaction of T-bet with GATA-3. *Science* 2005;307:430-3.
63. Dillon SR, Sprecher C, Hammond A, et al. Interleukin 31, a cytokine produced by activated T cells, induces dermatitis in mice. *Nat Immunol* 2004;5:752-60.
64. Karagiannidis C, Hense G, Martin C, et al. Activin A is an acute allergen-responsive cytokine and provides a link to TGF-beta-mediated airway remodeling in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:111-18.
65. Akdis CA, Blaser K, Akdis M. Apoptosis in tissue inflammation and allergic disease. *Curr Opin Immunol* 2004;16:717-23.
66. Infante-Duarte C, Horton HF, Byrne MC, et al. Microbial lipopeptides induce The production of IL-17 in TH cells. *J Immunol* 2000;165:6107-15.
67. Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, et al. Interleukin 17-producing CD41 effector T cells develop via a lineage distinct from The T helper type 1 and 2 lineages. *Nat Immunol* 2005;6:1123-32.
68. Park H, Li Z, Yang XO, et al. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat Immunol* 2005;6:1133-41.
69. Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, et al. Transforming growth factor-beta induces development of The T(H)17 lineage. *Nature* 2006;441:231-34.
70. Chung Y, Yang X, Chang SH, et al. Expression and regulation of IL-22 in The IL-17-producing CD41 T lymphocytes. *Cell Res* 2006;16:902-7.



71. Zheng Y, Danilenko DM, Valdez P, et al. Interleukin-22, a T(H)17 cytokine, mediates IL-23-induced dermal inflammation and acanthosis. *Nature* 2007;445:648-51.
72. Rangachari M, Mauermann N, Marty RR, et al. T-bet negatively regulates autoimmune myocarditis by suppressing local production of interleukin 17. *J Exp Med* 2006;203:2009-19.
73. Bush KA, Farmer KM, Walker JS, et al. Reduction of joint inflammation and bone erosion in rat adjuvant arthritis by treatment with interleukin-17 receptor IgG1 Fc fusion protein. *Arthritis Rheum* 2002;46:802-5.
74. Sergejeva S, Ivanov S, Lotvall J, et al. Interleukin-17 as a recruitment and survival factor for airway macrophages in allergic airway inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2005;33:248-53.
75. Schnyder-Candrian S, Togbe D, Couillin I, et al. Interleukin-17 is a negative regulator of established allergic asthma. *J Exp Med* 2006;203:2715-25.
76. Bettelli E, Carrier Y, Gao W, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells. *Nature* 2006;441:235-38.
77. Akimzhanov AM, Yang XO, Dong C. Chromatin remodeling of interleukin-17 (IL-17)-IL-17F cytokine gene locus during inflammatory helper T cell differentiation. *J Biol Chem* 2007;282:5969-72.
78. Prause O, Bozinovski S, Anderson GP, et al. Increased matrix metalloproteinase-9 concentration and activity after stimulation with interleukin-17 in mouse airways. *Thorax* 2004;59:313-7.
79. Hashimoto T, Akiyama K, Kobayashi N, et al. Comparison of IL-17 production by helper T cells among atopic and nonatopic asthmatics and control subjects. *Int Arch Allergy Immunol* 2005;137(Suppl 1):51-4.
80. Hoshino H, Laan M, Sjostrand M, et al. Increased elastase and myeloperoxidase activity associated with neutrophil recruitment by IL-17 in airways in vivo. *J Allergy Clin Immunol* 2000;105:143-9.

81. Nakae S, Saijo S, Horai R, et al. IL-17 production from activated T cells is required for The spontaneous development of destructive arTHritis in mice deficient in IL-1 receptor antagonist. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:5986-90.
82. Lubberts E, Joosten LA, van de Loo FA, et al. Reduction of interleukin-17-induced inhibition of chondrocyte proteoglycan synTHesis in intact murine articular cartilage by interleukin-4. *ArTHritis Rheum* 2000;43:1300-6.
83. Gorelik L, Fields PE, Flavell RA. Cutting edge: TGF-beta inhibits TH type 2 development THrough inhibition of GATA-3 expression. *J Immunol* 2000;165:4773-77.
84. HeaTH VL, Murphy EE, Crain C, et al. TGFbeta1 down-regulates TH2 development and results in decreased IL-4-induced STAT6 activation and GATA-3 expression. *Eur J Immunol* 2000;30:2639-49.
85. Li MO, Wan YY, Flavell RA. T cell-produced transforming growTH factor-beta1 controls T cell tolerance and regulates TH1- and TH17-cell differentiation. *Immunity* 2007;26:579-91.
86. Yamashita M, Ukai-Tadenuma M, Miyamoto T, et al. Essential role of GATA3 for The maintenance of type 2 helper T (TH2) cytokine production and chromatin remodeling at The TH2 cytokine gene loci. *J Biol Chem* 2004;279:26983-90.
87. Peter J. Barnes. PaTHogenic Mechanisms in AsTHma and COPD. *AsTHma and COPD Basic Mechanisms and Clinical Management*, 1st ed. Elsevier, 2002: 343-56.
88. HowarTH PH. Mediators of nasal blockage in allergic rhinitis. *Allergy* 1997;52:S12-18.
89. Lanny Rosenwasser. New insights into The paTHophysiology of allergic rhinitis. *Allergy AsTHma Proc* 2007;28:10-15.
90. Naclerio RM, Proud D, Togias AG, et al. Inflammatory mediators in late antigen-induced rhinitis. *N Engl J Med* 1985;313:65-70.
91. Bascom R, Pipkorn U, Lichtenstein LM, et al. The influx of inflammatory cells into nasal washings during The late response to antigen challenge. Effect of systemic steroid pretreatment. *Am Rev Respir Dis* 1988;138:406-12.

92. Skoner D, Doyle W, Boehm S. Late phase eustachian tube and nasal allergic responses associated with inflammatory mediator elaboration. *Am J Rhinol* 1988;2:155-161.
93. Skoner DP. Allergic rhinitis: definition, epidemiology, pathophysiology, detection and diagnosis. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:2-8.
94. Leung DYM. Allergic Rhinitis. In: Leung DYM, Sampson HA, Geha RS, Szefer SJ, eds. *Pediatric Allergy Atlas*, St. Louis: Mosby, 2003;287-97.
95. Newhall KK, Saltoun C. Skin testing in allergy. *Allergy and Asthma Proceedings* 2004;25:5-6.
96. Boyd EL. Cutaneous testing for allergy diagnosis: Comparison of methods in common use. *Otolaryngol Clin North Am* 2003;36:869-77.
97. Heinzerling L, Frew A J, Bindslev-Jensen C, et al. Standard skin prick testing and sensitization to inhalant allergens across Europe – a survey from the GA<sup>2</sup>LEN network. *Allergy* 2005;60:1287–1300.
98. Nelson H. Variables in allergy skin testing. *Immunol Allergy Clin North Am* 2001;21:281-90.
99. Dolen WK. Skin testing techniques. *Immunol Allergy Clin North Am* 2001;21:273-79.
100. Mauri-Hellweg D, Bettens F, Mauri D, et al. Activation of drug-specific CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells in individuals allergic to sulfonamides, phenytoin, and carbamazepine. *J Immunol* 1995;155:462-72.
101. Howard and Reed; 1998; *Unbiased Stereology*, BIOS Press.
102. Yuksel H, Kirmaz C, Yilmaz O, et al. Nasal mucosal expression of nitric oxide synthases in patients with allergic rhinitis and its relation to asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2008;100:12-6.
103. Kirmaz C, Ozbilgin K, Yuksel H, et al. Increased expression of angiogenic markers in patients with seasonal allergic rhinitis. *Eur Cytokine Netw* 2004;15:317-22.
104. Magnan A, Humbert M. Is deficient tolerance the true paradigm for atopic diseases? *Clin Exp Allergy* 2005; 35:1507-10.

105. Paik Y, Dahl M, Fang D et al. Update: The role of FoxP3 in allergic disease. *Current Opinion in Otolaryngology & Head and Neck Surgery* 2008;16:275-79.
106. Lee SM, Gao B, Dahl M, et al. Decreased FoxP3 gene expression in The nasal secretions from patients with allergic rhinitis. *Otolaryngology–Head and Neck Surgery* 2009;140:197-201.
107. Hartl D, Koller B, Mehlhorn AT, et al. Quantitative and functional impairment of pulmonary CD4+CD25(high) regulatory T cells in pediatric asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2007;119:1258-66.
108. Lee JH, Yu HH, Wang LC, et al. The levels of CD4+CD25+ regulatory T cells in pediatric patients with allergic rhinitis and bronchial asthma. *Clin Exp Immunol* 2007;148:53-63.
109. Shi HZ, Li S, Xie ZF, et al. Regulatory CD4+CD25+ T lymphocytes in peripheral blood from patients with atopic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004;113:172-78.
110. Ling EM, Smith T, Nguyen XD, et al. Relation of CD4CD25 regulatory T-cell suppression of allergen-driven T-cell activation to atopic status and expression of allergic disease. *Lancet* 2004; 63:608-15.
111. Akdis M, Verhagen J, Taylor A, et al. Immune responses in healthy and allergic individuals are characterized by a fine balance between allergen-specific T regulatory 1 and T helper 2 cells. *J Exp Med* 2004;199:1567-75.
112. Taylor A, Verhagen J, Akdis CA, et al. T regulatory cells and allergy. *Microbes and Infection* 2005;7:1049-55.
113. Steinke JW, Borish L. Cytokines and chemokines. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:S441-5.
114. Akdis CA, Blesken T, Akdis M, et al. Role of IL-10 in specific immunotherapy. *J Clin Invest* 1998;102:98-106.
115. Sun J, Wong B, Cundall M, et al. Immunoreactivity profile of peripheral blood mononuclear cells from patients with ragweed-induced allergic rhinitis. *Clin Exp Allergy* 2007;37:901-18.

116. Ouyang W, Ranganathan SH, Weindel K, et al. Inhibition of TH1 development mediated by GATA-3 Through an IL-4-independent mechanism. *Immunity* 1998;9:745-55.
117. Nakamura Y, Ghaffar O, Olivenstein R, et al. Gene expression of The GATA-3 transcription factor is increased in atopic asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1999;103:215-22.
118. Christodoulopoulos P, Cameron L, Nakamura Y, et al. TH2 cytokine-associated transcription factors in atopic and nonatopic asthma: evidence for differential signal transducer and activator of transcription 6 expression. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:586–91.
119. Kolls JK, Linden A. Interleukin-17 family members and inflammation. *Immunity* 2004;21:467-76.
120. Sato K, Suematsu A, Okamoto K, et al. TH17 functions as an osteoclastogenic helper T cell subset That links T cell activation and bone destruction. *J Exp Med* 2006;203:2673-82.
121. Lock CHG, Pedotti R, Brendolan A, et al. Gene-microarray analysis of multiple sclerosis lesions yields new targets validated in autoimmune encephalomyelitis. *J Biol Chem* 2002;277:500-8.
122. Molet S, Hamid Q, Davoine F, et al. IL-17 is increased in asthmatic airways and induces human bronchial fibroblasts to produce cytokines. *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:430-38.
123. Matsunaga K, Yanagisawa S, Ichikawa T, et al. Airway cytokine expression measured by means of protein array in exhaled breath condensate: correlation with physiologic properties in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118:84-90.
124. Veldhoen M, Hocking RJ, Atkins CJ, et al. TGFbeta in The context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells. *Immunity* 2006;24:179-89.
125. Aggarwal S, Ghilardi N, Xie MH, et al. Interleukin-23 promotes a distinct CD4 T cell activation state characterized by The production of interleukin-17. *J Biol Chem* 2003;278:1910-14.

126. Burgler S, Ouaked N, Bassin C, et al. Differentiation and functional analysis of human T(H)17 cells. *J Allergy Clin Immunol*. 2009; Jan 27.
127. Evans HG, Suddason T, Jackson I, et al. Optimal induction of T helper 17 cells in humans requires T cell receptor ligation in the context of Toll-like receptor-activated monocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:17034-39.
128. Ivanov II, McKenzie BS, Zhou L, et al. The orphan nuclear receptor ROR $\gamma$ t directs the differentiation program of proinflammatory IL-17<sup>+</sup> T helper cells. *Cell* 2006;126:1121-33.
129. Dambacher J, Beigel F, Zitzmann K, et al. The role of the novel TH17 cytokine IL-26 in intestinal inflammation. *Gut* 2008;May:15.
130. Klemens C, Rasp G, Jund F, et al. Mediators and cytokines in allergic and viral-triggered rhinitis. *Allergy Asthma Proc* 2007;28:434-41.
131. Matsunaga K, Yanagisawa S, Ichikawa T, et al. Airway cytokine expression measured by means of protein array in exhaled breath condensate: correlation with physiologic properties in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol* 2006;118:84-90.
132. Wong CK, Ho CY, Ko FW, et al. Proinflammatory cytokines (IL-17, IL-6, IL-18 and IL-12) and TH cytokines (IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-10 and IL-13) in patients with allergic asthma. *Clin Exp Immunol* 2001;125:177-83.
133. Lei Z, Liu G, Huang O, et al. SCF and IL-31 rather than IL-17 and BAFF are potential indicators in patients with allergic asthma. *Allergy* 2008;63:327-32.