



T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ASTIMLI ÇOCUKLARDA NEFES HAVASI
sHLA-G DÜZEYLERİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Burak Barış YILMAZ

Bu proje TTU-2013-4490 Proje Koduyla Erciyes Üniversitesi

BAP Birimi Tarafından Desteklenmiştir

KAYSERİ-2015



T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ASTIMLI ÇOCUKLARDA NEFES HAVASI
sHLA-G DÜZEYLERİ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Burak Barış YILMAZ

Danışman
Prof. Dr. Fulya TAHAN

KAYSERİ-2015

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasının her aşamasında bana yol gösteren, bilgi ve deneyimlerini aktaran kıymetli hocam, tez danışmanım sayın Prof. Dr. Fulya TAHAN'a gösterdiği anlayışlı tavrından dolayı teşekkürü borç bilirim.

Anabilim Dalı Başkanımız sayın Prof. Dr. Tamer Güneş'in şahsında tüm Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerine ve her zaman beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma şükranlarımı sunarım.

İhtisasım esnasında tanışmış olmakla kendimi çok şanslı hissettiğim sevgili dostlarım ve tüm mesai arkadaşlarıma dostluklarından dolayı teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında bana destek olan tüm Pediatri Allerji ekibine çok teşekkür ederim.

Beni bugünlere getiren ve hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan canım babama, canım anneme ve her zaman yanımda olan sevgili nişanlım ve çok yakında eşim olacak İlkiz Özge ÖZDİL'e teşekkür ederim

Dr. Burak Barış YILMAZ

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR	iv
ŞEKİL ve RESİM LİSTESİ	vii
TABLO ve GRAFİK LİSTESİ	viii
ÖZET.....	ix
ABSTRACT	x
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Bronşial Astım	3
2.1.1 Epidemiyoloji.....	3
2.1.2.Etiyoloji.....	4
2.1.2.1. Konak Faktörler	4
2.1.2.2. Çevresel Faktörler	5
2.1.3 Astım genetiği	8
2.1.4.Astım Patogenezi	13
2.1.4.1. Astımda Havayolu İnflamasyonu.....	15
2.1.4.2. Astım Patogenezinde Rol Alan İnflamatuvar Hücreler	15
2.4.1.3 Astım Patogenezinde Rol Alan Havayolu Yapısal Hücreleri	16
2.4.1.4. Astım Patogenezinde Rol Alan Temel Mediyatörler	17
2.1.5. Astımda Havayolunda Görülen Yapısal Değişiklikler Ve Yeniden Yapılanma...	18
2.1.6. Astım Tanı.....	18
2.1.6.1Tıbbi Öykü	19
2.1.6.2 Fizik Muayene.....	20
2.1.6.3 Tanısal Testler	20
2.1.7. Astım Tedavisi	23
2.2 HLA	23
2.2.1 HLA Sistemi	23

3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	29
3.1. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri.....	29
3.2. Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri.....	30
3.3. Hemogram Ölçümü.....	30
3.4. Solunum Fonksiyon Testleri	30
3.5. Deri Testlerinin Uygulanması	30
3.6. Yoğunlaştırılmış Nefes Havaının Elde Edilmesi ve Çalışılması.....	31
4. BULGULAR	34
4.1. Eozinofil Sayıları	35
4.2. Eozinofil yüzdeleri	35
4.3. FEV1 yüzde ve FEV1 litre	36
4.4.FVC yüzde, FVC abs	37
4.5.FEV1/FVC	38
4.6.FEF 25 75 yüzde, FEF 25 75 litre	39
4.7. sHLA-G.....	40
4.8 Korelasyon Analizleri	42
5.TARTIŞMA	43
6. SONUÇLAR	50
KAYNAKLAR	51

KISALTMALAR

ISAAC	: International study of asthma and allergies in childhood
ADAM33	: A disintegrin ve metalloprotease 33
ORMDL3	: Orosomucoid-like 3
TNF-α	: Tümör nekroz faktör- α
RSV	: Respiratuar sinsisyal virüs
HLA	: İnsan lökosit antijen
Shla	: Çözünebilen İnsan lökosit antijen
CTLA-4	: Sitotoksik T-lenfosit ilişkili protein-4
Ig E	: İmmunglobulin E
IL	: İnterlökin-4
TCR	: T cell reseptör
FOXP3	: Forkhead box P3
GM-CSF	: Granülosit Monosit Koloni Stimüle Edici Faktör
B2AR	: β 2 adrenerjik reseptör
PHF11	: PHD finger protein
LTC4S	: ve lökotrien C4 sentaz
MHC	: Major Histocompatibility Complex
Th	: Yardımcı T hücresi
T REG	: Regülatuar T hücresi
TGF-β	: Transforming büyüme faktörü-beta
ICAM-1	: İnterselüler adezyon molekülü-1
VCAM-1	: Vascular cell adhesion molecule-1

RANTES	: Regulated on Activation, Normal T Cell Expressed and Secreted
MCP-3	: Monosit kemotaktik protein-3
MCP-4	: Monosit kemotaktik protein-4
TIM	: T-cell immunoglobulin and mucin domain
ECP	: Eozinofilik katyonik protein
EPO	: Eozinofilik peroksidaz
FcεRI	: Yüksek afiniteli IgE receptor
EDN	: Eozinofil kökenli nörotoksin
MMP	: Matriks metalloproteaz
PG	: Prostoglandin
CXCL 8	: CXC kemokin ligand sekiz
LTB4	: Lökotrien B4
TARC	: Timus ve aktivasyon ilişkili kemokin
MDC	: Makrofaj kaynaklı kemokin
NO	: Nitrik oksit
NF-κB	: Nükleer faktör kappa B
CCL20	: CC kemokin ligand 20
ICAM	: Hücreler arası adhezyon molekülü
VCAM	: Vasküler hücre adezyon molekülü
IKKβ	: Kappa B kinaz inhibitörü
TGF-β	: Transforme edici büyüme faktörü beta
YNH	: Yoğunlaştırılmış nefes havası
ILT-2	: İmmünglobulin benzeri kalıp-2
KIR2DL4	: İki bölge, uzun sitoplazmik kuyruk

BAL	: Bronko alveolar lavaj
FEV1	: 1. saniye zorlu ekspiryum volümü
FVC	: 1.saniye zorlu ekspiryum volümü
FEV1/FVC	: 1.saniye zorlu ekspiryum volümü/zorlu vital kapasite
FEF25-75	: Zorlu ekspirasyon ile volümlerin % 25 ila %75'inin atıldığı periyoddaki akım hızı

ŞEKİL ve RESİM LİSTESİ

Şekil 1.	Allerjik hastalıkların gelişimi	9
Şekil 2.	HLA (Human Leukocyte Antigen) bölgesi Gen haritası	24
Şekil 3.	Gruplara göre Eozinofil sayıları dağılımı	35
Şekil 4.	Gruplara göre Eozinofil yüzdelerinin dağılımı	36
Şekil 5.	Gruplara göre FEV1 litre dağılımı	36
Şekil 6.	Gruplara göre FEV1 yüzdeleri dağılımı.....	37
Şekil 7.	Gruplara göre FVC yüzdeleri dağılımı.....	37
Şekil 8.	Gruplara göre FVC abs. litreye göre dağılımı.....	38
Şekil 9.	Gruplara göre FEV1/FVC yüzdesinin dağılımı	38
Şekil 10.	Gruplara göre FEF 25-75 yüzdesinin dağılımı.....	39
Şekil 11.	Gruplara göre FEF 25-75 litresinin dağılımı.....	39
Şekil 12.	Gruplara göre sHLA-G dağılımı	40
Resim 1.	RTUBE Cihazı	31
Resim 2.	RTUBE Cihazı Kullanımı	31
Resim 3.	Hazırlanan plaka örneği	33

TABLO ve GRAFİK LİSTESİ

Tablo 1.	Astım ile ilişkili gen ve kromozomlar.....	11
Tablo 2.	Elisa Kit İçeriği	32
Tablo 3.	Konjuge solüsyon hazırlanması	32
Tablo 4.	Çalışmaya alınan hastaların özellikleri	34
Tablo 5.	Atopik ve atopik olmayan astım hastaların karşılaştırılması	40
Tablo 6.	Atopik astım hastalarının ve kontrol grubunun karşılaştırılması	41
Tablo 7.	Atopik olmayan astım hastalarının ve kontrol grubunun karşılaştırılması.....	41
Grafik 1.	sHLA-G standart grafisi.....	33

ASTIMLI ÇOCUKLARDA NEFES HAVASI sHLA-G DÜZEYLERİ

ÖZET

Giriş: Human lökosit antijen G (HLA-G), nonklasik major histocompatibility complex (MHC) class I ailesine ait bir moleküldür. HLA-G periferik kan mononükleer hücrelerinden Th2 tipte sitokin salınımını uyarır. sHLA-G aracılıklı bir hastalık olan bronşial astımda sHLA-G'nın rolü tam olarak bilinmemektedir. Astımlı çocuklarda nefes havası sHLA-G düzeyleri araştırılmamıştır. .

Amaç: Astımlı çocuklarda nefes havası sHLA-G düzeylerini araştırmak

Yöntem:Çalışmaya, astımlı çocuklar (n=62) ve sağlıklı kontroller (n=18) dahil edilmiştir. Nefes havası sHLA-G düzeyleri ELIZA yöntemi ile ölçülmüştür. Bütün hastaların solunum fonksiyonları ve eozinofil düzeyleri belirlenmiş ve 23 antijen, uygun negatif ve pozitif kontrolle deri prik testi yapılmıştır. atopileri değerlendirilmiştir.

Bulgular: Nefes havası sHLA-G düzeyleri karşılaştırıldığında sağlıklı kontrollerle aralarında anlamlı bir fark saptanamamıştır ($p>0.05$). Eozinofil yüzdelerine bakıldığında gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.05$).

Sonuç: Çalışmamız nefes havası sHLA-G düzeylerinin sağlıklı çocuklar ve astımlı çocuklar arasında farklı olmadığını göstermektedir. Astımlı hastalarda sHLA-G molekülünün rolünü belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Astım, atopi, nefes havası, sHLA-G

THE LEVELS OF sHLA-G IN ASTHMA CHILDREN'S BREATH AIR

ABSTRACT

Background: Human leukocyte antigen G (HLA-G) is a nonclassical major histocompatibility complex (MHC) class I gene. HLA-G stimulates Th2 cytokine secretion by peripheral blood mononuclear cells. The role of sHLA-G in bronchial asthma is incompletely understood and the exhaled breath condensate level of sHLA-G in asthmatic children has not been investigated.

Objective: To investigate the exhaled breath condensate level of sHLA-G in asthmatic children.

Methods: Asthmatic children (n=62) and healthy children (n=18) were included in the study. Levels of sHLA-G were determined in exhaled breath condensate using ELISA. Spirometric measurements and eosinophil counts were obtained and skin testing was done with a battery of 23 antigens with appropriate positive and negative controls.

Results: No significant difference was observed in the exhaled breath condensate level of sHLA-G between the asthmatic and healthy children (>0.05). There was a significant difference in the peripheral blood eosinophil percent among the groups ($p<0.05$).

Conclusion: Our study shows that exhaled breath condensate sHLA-G levels do not differ between asthmatic children and healthy controls. Further investigations are required to define better the mechanism of the production and the role of sHLA-G molecules observed in patients with asthma.

Key Words: Asthma, atopy, exhaled breath, sHLA-G

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Astım nefes darlığı, hışıltı, göğüste sıkışma ve/veya öksürük gibi tekrarlayan solunum semptomları ile karakterize olan reversibl hava yolu obstrüksiyonunun eşlik ettiği bir hastalıktır. Bu obstrüksiyonun temelinde birçok hücre ve hücre bileşeninin rol oynadığı kronik inflamasyon vardır.

Astım Th2 tip immünitinin rol oynadığı bir hastalıktır. Gebelik döneminde HLA-G molekülünün Th2 tip immünitinin oluşmasına katkıda bulunduğu bilinmektedir. İntrauterin dönemde Th2 tip olan immünite doğumdan sonra karşılaşılan değişik faktörlerle Th1 tipine kaymaktadır. Bu dönemde Th1 de ortaya çıkabilecek bir gecikme ya da hata Th2 tip immünitinin devamına neden olur. Bu çocuklarda azalmış IFN- γ üretimi tespit edilir ve ileriki yaşamlarında atopiye meyil gösterirler.

Kronik inflamatuvar bir akciğer hastalığı olan astımın patogenezi, neden bazı hastalarda gelişip bazılarında gelişmediği tam olarak aydınlatılamamıştır. Th2 aktivite artmakta ve Th2 kökenli sitokinler bu hastalıkta önemli rol oynamaktadır. HLA-G molekülünün Th2 aktivitesine sebep olarak astım oluşmasında rol oynadığı düşünülmektedir. Th2 aktivitesinin arttığı hastalıklar olan atopik hastalıklarla sHLA-G molekülü arasındaki bağlantıyı araştıran çalışmalar da vardır. Bu hastalıklardan allerjik rinitte ve atopik astımda plazma sHLA-G düzeyi yüksek bulunmuştur. sHLA-G'nin astımlı hastaların plazmalarında olduğu gibi havayollarında da arttığı bronko alveolar lavaj örneklerinde bildirilmişti.

Gerek inflamasyonun takibinde gerekse de hastalığın tedavisinin takibinde ve kontrolünün değerlendirilmesinde, geleneksel yöntemlerin çoğu invaziv, zor, zaman alıcı ve maliyeti yüksek olan yöntemlerdir. Bundan dolayı daha basit, hızlı, kolay uygulanabilir, tekrarlanabilir noninvaziv yöntemler geliştirilmiştir. Yoğunlaştırılmış nefes havası dışarıya verilen nefes havasının soğutulup yoğunlaştırılarak toplanmasıdır. Yoğunlaştırılmış nefes havası toplanması hava yolu fonksiyonu veya inflamasyonunu değiştirmez ve küçük çocuklarda bile kolayca uygulanabilir.

Günümüzde yoğunlaştırılmış nefes havasında çeşitli inflamatuvar mediatörler, oksidanlar ve iyonlar tanımlanmıştır. Yoğunlaştırılmış nefes havasının kimyasındaki ve dışarıya verilen belirteçlerdeki anomaliler inflamasyon ve oksidatif stres tarafından oluşturulan hava yolu sınırlayıcı sıvısının intrinsek anomalilerini yansıtır ve akciğer hastalıklarının kıymetli bir izlem aracı olabilir.

Çalışmamızda amaçlarımız daha önce nefes havasında çalışılmamış olan sHLA-G düzeyini çalışarak;

- 1) sHLA-G'nin atopik ve atopik olmayan astımdaki rolünü,
- 2) sHLA-G'nin eozinofil sayısı, solunum fonksiyon testleri ile ilişkisini,
- 3) sHLA-G'nin astım tanısında marker olup olamayacağını belirlemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bronşial Astım

Astım nefes darlığı, hışıltı, göğüste sıkışma ve/veya öksürük gibi tekrarlayan solunum semptomları ile karakterize olan reversibl hava yolu obstrüksiyonunun eşlik ettiği bir hastalıktır. Bu obstrüksiyonun temelinde birçok hücre ve hücre bileşeninin rol oynadığı kronik inflamasyon vardır. Kronik inflamasyon, özellikle gece veya sabahın erken saatlerinde meydana gelen tekrarlayan hışıltılı solunum, nefes darlığı, göğüste sıkışma hissi ve öksürük ataklarına neden olan hava yolunun çeşitli uyaranlara aşırı duyarlılığıyla ilişkilidir. Astımı olan kişilerde belirtiler ve hastalığın şiddeti değişkenlik göstermektedir. Bu, hastalığın heterojen özelliğini yansıtmaktadır. Genetik eğilim, atopi ve allerjen maruziyeti ile alevlenme olması astım için önemli risk faktörleridir (1,2).

2.1.1 Epidemiyoloji

Astımın prevalansı, ülkelere, kullanılan yöntemlere, ırka, coğrafi bölgelere ve çevresel etkenlere göre değişmektedir. Gelişmiş toplumlarda ISAAC (International study of asthma and allergies in childhood) yöntemi ile astım prevalansı %4-23 arasında bulunmuştur (3,4). Astım 300 milyon kişiyi etkilediği tahmin edilen dünya çapında bir sorundur (6). Astım her yaşta ortaya çıkabilir, ancak insidansının en yüksek olduğu dönem çocukluk çağıdır. Çocuklukta hafif hastalığı olanlarda erişkin dönemde ya tamamen gerilemekte veya hastalık hafif olarak devam etmektedir. Çocuklukta başlayan astım sıklıkla adölesan dönemde remisyona uğramaktadır (1,5).

Astım prevalansı, gelişmekte olan ülkelere kıyasla gelişmiş ülkelerde, gelişmiş ülkelerin yoksul topluluklarında, gelişmekte olan ülkelerin ise varlıklı topluluklarında daha yüksektir. İskandinav ülkelerinde, Eskimolarda, Amerika yerlilerinde ve siyah ırkta astım prevalansı düşük iken, İngiltere, Avustralya ve Yeni Zelanda'da sıklık çok artmaktadır (7).

2.1.2.Etiyoloji

Astım gelişiminde rol oynayan faktörler kişisel ve çevresel olarak iki başlıkta toplanabilir:

2.1.2.1. Konak Faktörler

Genetik faktörler

Astımlı çocukların aile bireylerinde astım, allerjik rinit, atopik dermatit gibi hastalıkların bulunması bu hastalıkların ortak bir ailesel ya da kalıtsal temeli olduğunu düşündürmektedir (8,9).

İkizlerde yapılan çalışmalarda monozigot ikizler arasında 0.74, dizigotlar arasında ise 0.35 eş hastalanma oranı bildirilmektedir (10).

Gözlemler astımın kalıtsal özelliğini göstermektedir ama kalıtım şekli kesin olarak belirlenememiştir. Kromozom 2q14'de yerleşen dipeptidil peptidaz 10, A disintegrin ve metalloprotease 33 (ADAM33), filaggrin32, Orosomucoid-like 3 (ORMDL3), β 2 adrenerjik reseptör genleri, interlökin-4 reseptör geni astımla ilişkili genler olarak bulunmuştur (11,12).

Astım gelişimiyle bağlantılı gen araştırmaları başlıca dört alana odaklanmaktadır (13).

- 1) Allerjene özgü IgE antikorlarının üretimi (atopi)
- 2) Hava yolu aşırı duyarlılığının ortaya çıkması
- 3) Sitokinler, kemokinler ve büyüme faktörleri gibi enflamatuvar medyatörlerin oluşumu

4) Th1 veya Th2 yönündeki yanıt belirleyen faktörler (astımdaki hijyen hipotezi ile ilgili olarak)

Atopi: Astım gelişiminde en önemli risk faktörü olarak kabul edilmektedir. Atopi çevrede karşılaşılan çeşitli antijenlere karşı Ig E grubunda antikor sentezleme yeteneğidir. Atopik olmayanlar ile karşılaştırıldığında, atopiklerde astım riskinin 10-20 kat artmış olduğu görülmektedir (14).

Obezite: Astım obez hastalarda daha sık görülmekte ve kontrol altına alınması daha zor olmaktadır. Astımlı obez hastaların, obez olmayan astımlılara göre akciğer fonksiyonlarının daha kötü olduğu ve komorbidite sıklığının arttığı saptanmıştır. Sistemik glukokortikoid kullanımı ve sedanter hayat tarzı ağır astımlı hastalarda obesiteye sebep olabileceği gibi, obesite de astım gelişimini kolaylaştırmaktadır (15,16).

Obezitenin genetik, gelişimsel, hormonal, nörojenik etkilerinin yanında pro-inflamatuar bir durum oluşturduğu ve akciğer mekanikleri üzerine etkileri ile astım gelişimine sebep olabileceği düşünülmektedir (17).

Adipozitlerden çeşitli pro-inflamatuar sitokinlerin (leptin, adiponektin, plasminojen aktivatör inhibitör) ve IL-6, tümör nekroz faktör- α (TNF- α), eotaksin gibi mediyatörlerin salınması obez kişilerde sistemik inflamatuvar durumu açıklamaktadır.

Cinsiyet: Erkek cinsiyet çocuklarda astım için bir risk faktörüdür. Astım prevalansı, 14 yaşından önce erkek çocuklarda kız çocuklara göre yaklaşık 2 kat yüksektir. Çocuklar büyüdükçe cinsiyetler arasındaki farklılık azalır ve erişkinlik çağında astım prevalansı kadınlarda erkeklerden daha yüksektir. Cinsiyete bağlı bu farklılıkların nedeni açık değildir (18).

2.1.2.2. Çevresel Faktörler

Son yıllarda özellikle sanayileşmiş bölgelerde çocukluk çağı astımı ve allerjik hastalıklarda rahatsız edici boyutta bir artış söz konusudur. Batı toplumlarındaki bu belirgin artışın sadece genetik faktörler ya da tanı olanaklarındaki iyileşme ile açıklanmasının pek mümkün olmadığı vurgulanmakta, çevresel faktörlerin özellikle batılılaşmış yaşam tarzının önemli rol oynadığı düşünülmektedir.

Allerjenler

Ev içi ve ev dışı allerjenlerin astım alevlenmelerine neden olabildiği iyi bilinmekle birlikte, bunların astım gelişimindeki rolleri hâlâ tam olarak anlaşılamamıştır. Doğum-kohort çalışmaları, ev tozu akarı allerjenlerine, kedi veya köpeklerin derilerinden kaynaklanan kepeklere ve Aspergillus küflerine duyarlılaşmanın 3 yaşına kadar çocuklarda astım benzeri semptomlar için bağımsız risk faktörü olduğunu göstermiştir (19).

Ancak allerjen maruziyeti ile çocukların duyarlılaşması arasında dolaylı bir bağlantı vardır. Duyarlılaşma allerjene, doza, maruziyet süresine, çocuğun yaşına ve genetik faktörlere bağlıdır (20,21).

Enfeksiyonlar

Bebeklik çağında bazı virüsler astımla ilgili fenotipin başlangıcı ile ilişkilendirilmiştir. Respiratuar sinsityal virüs (RSV) ve parainfluenza virüs, bronşiyolit dahil olmak üzere çocukluk çağı astımının birçok özelliği ile benzerlik gösteren bir semptom kalıbının ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Hastaneye yatırılan ve RSV olduğu belgelenen çocuklarda yapılan, uzun süreli ileriye yönelik birkaç çalışmada, bu hastaların yaklaşık %40'ında hışıltılı solunumun devam ettiği veya geç çocukluk çağı astımının ortaya çıktığı gösterilmiştir (22).

Astımdaki “hijyen hipotezi”, yaşamın erken dönemlerinde enfeksiyonlara maruz kalınmasının, çocuğun bağışıklık sistemini, astım ve diğer allerjik hastalıkların gelişme riskinde azalmayla sonuçlanan, “allerjik olmayan” bir yola yönlendirdiğini öne sürmektedir. Hijyen hipotezi halen araştırılmaya devam edilmektedir; ancak bu mekanizma, ailenin kalabalık olması, doğum sırası, kreşlere devam etme ile astım riski arasındaki ilişkileri açıklayabilir. Örneğin, daha büyük kardeşleri olan küçük çocuklar ve kreşe devam eden çocuklarda enfeksiyon riski daha yüksektir; ancak sonraki yaşamlarında astım ve diğer allerjik hastalıklara karşı korunma geliştirmektedir (23,24).

Sigara maruziyeti

Astım gelişimini etkileyecek en önemli faktörlerden biri de sigara maruziyetidir. Sigara kullanan annelerin bebeklerinde yaşamın ilk yılında hışıltılı solunum ile seyreden hastalık gelişme riski 4 kat yüksektir (25).

Sigara dumanına maruziyet alt solunum yolu enfeksiyonu riskini hem ilk bir yılda hem de çocukluk çağına arttırmakta (26), astımlılarda akciğer fonksiyonlarındaki bozulmanın şiddetlenmesine, astım ağırlığında artışa yol açmaktadır. Sigara dumanı ayrıca inhaler ve sistemik steroid tedavisine direnç oluşturmakta ve astım kontrolünü güçleştirmektedir (27,28).

Ev dışı veya ev içi hava kirliliği

Ev dışı hava kirliliğinin astım gelişimi üzerindeki rolü tartışmalıdır. Hava kirliliği olan yerlerde büyüyen çocuklarda akciğer fonksiyonu azalmaktadır; ancak bu fonksiyon kaybının astım gelişimiyle ilişkisi bilinmemektedir (29).

Beslenme

Beslenme ile astım arasında ilişki olduğu bilinmektedir. Özellikle anne sütü alımı ve astım arasındaki ilişki bir çok araştırmaya konu olmuştur. Bu koruyucu etkinin emzirmenin süresi ve yoğunluğuna bağlı olabileceği ileri sürülmüştür (30,31).

Retrospektif kohort bir çalışmada doğumdan sonra en az dört ay anne sütü ile beslenen çocuklarda altı yaşında astım riskinde anlamlı azalma saptanmıştır (32).

Anne sütü ile beslenme ne kadar uzun sürerse inek sütü ile karşılaşma o kadar geç olmaktadır. Genel olarak veriler, işlenmemiş inek sütü ve soya proteini içeren besin alan çocuklarda erken çocukluk çağına hışıltılı solunum ile seyreden hastalık insidansının, anne sütü alan çocuklara kıyasla daha yüksek olduğunu göstermektedir. Ayrıca; artmış oranlarda hazır gıda ile beslenme, n-6 çoklu doymamış yağ asidi alımı, yetersiz miktarda antioksidan ve n-3 çoklu doymamış yağ asidi alımının son zamanlarda görülen astım ve atopik hastalıktaki artışa katkıda bulunduğu ileri sürülmektedir (33,34).

Şehir yaşamı ve sosyoekonomik durum

Şehir yaşamı için tipik olan sigara, aşırı kalabalık, kötü havalandırma, uygunsuz ısınma, rutubet gibi çevresel risk faktörleri astımı şiddetlendirmektedir (35).

2.1.3 Astım genetiği

Bir yakını (anne, baba ya da kardeş) atopik olanların yaklaşık %20-30'unda, hem annesi hem de babası atopik olanların ise %40-50'sinde atopik hastalık gelişmektedir (36).

Ailesinde atopi öyküsü olan çocuklar, olmayan çocuklardan daha düşük dozda allerjenlerle karşılaşmaları durumunda bile duyarlılık geliştirmektedirler. Günümüzde atopik hastalıkların etyolojisinde genetik faktörlerin rolünün %35-95 civarında olduğu kabul edilmektedir (37).

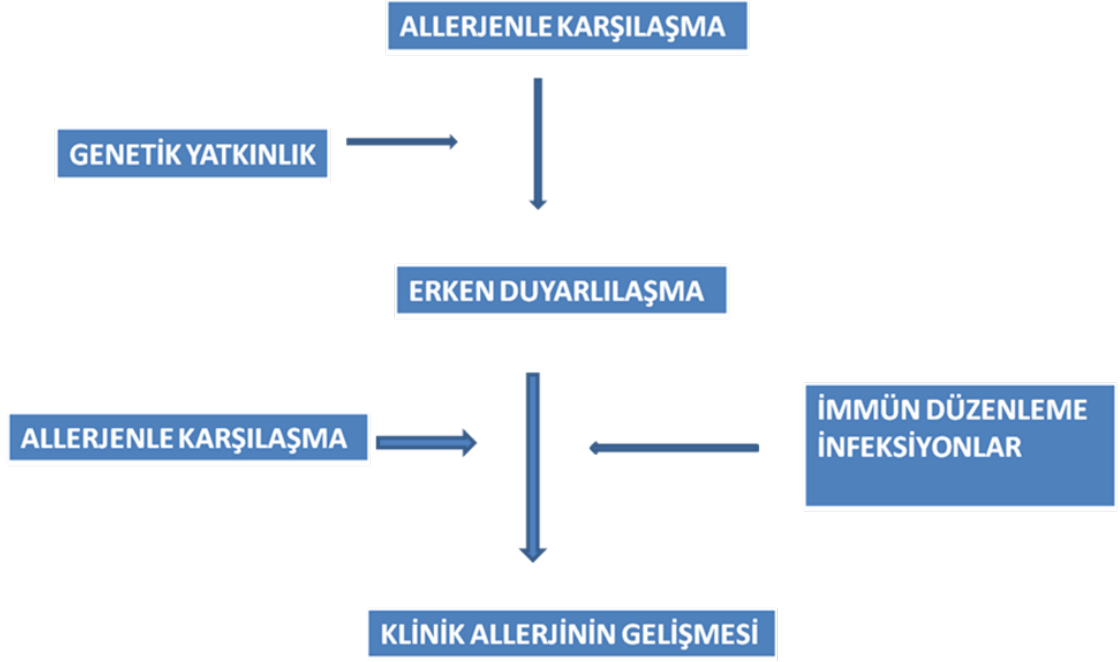
Serum total IgE düzeyleri ile 2,4,6,9,10,11 ve 15. kromozomlar arasında ilişki olduğu ifade edilmiştir (38).

Deri testi pozitif olan kişilerde HLA-B8, HLA-Dw2 ya da HLA-Dw3 artışı bildirilmiştir (39).

Astım ve allerjinin ailesel özelliği uzun yıllardır bilinmektedir. İlk kez 1916 yılında Cooke ve Van der Veer isimli araştırmacılar, 504 aileyi inceleyerek “duyarlılığa eğilim”in otozomal dominant yolla aile bireylerine geçebileceğini belirtmişlerdir. Schwartz ise astmatik olguların aile bireylerinde bu monogenetik geçişi %13 oranında, non-astmatik aile bireylerinde ise %4 oranında saptamıştır (40).

Astımın tek yumurta ikizlerinde, çift yumurta ikizlerinden daha fazla birlikte görülmesi, atopik bireyin diğer aile fertlerinde de atopinin sık bulunması, hastalığın ortaya çıkışında genetik faktörlerin de rolü olduğunu göstermektedir; ancak astım için tek bir sorumlu gen veya gen grubundan söz etmek mümkün değildir. Astım, kompleks poligenik bir hastalık olarak ele alınmaktadır (41).

Literatürde astım ya da atopi ile ilişkili 100'den fazla gen tanımlanmıştır. Birçok araştırma grubu kromozomlar üzerinde yoğunlaşmaktadır. 2q32-q33 kromozomunda sitotoksik T-lenfosit ilişkili protein-4 (CTLA-4) geni, aday genlerden biridir. Bu protein T-hücre fonksiyonu ve immünglobulin E (IgE) düzenlenmesinde rol oynar (42-46).



Şekil 1. Allerjik hastalıkların gelişimi

5q31 kromozomu, astım ve atopi ilişkili inflamasyon ve bu inflamasyonun ciddiyetini belirleyen interlökin-4 (IL-4), IL-5, IL-13, CD-14, Granülosit Monosit Koloni Stimüle Edici Faktör (GM-CSF) gen bölgelerini içerir. Kromozom 6 ise MHC (Major Histocompatibility Complex) ilişkili gen bölgesini kapsar ve spesifik immünite ile bağlantılıdır. Kromozom 13q14 bölgesi serum total IgE düzeyleri ile ilgili bölgedir (47).

Astım ve atopi ile ilgili gen analiz çalışmalarında 6p22.3-p21.1 bölgesinin bronş aşırı duyarlılığı ile, 5q11.2-q14.3 ve 6pter-p22.3 bölgesinin IgE düzeyleri ile, 3p22.1-q22.1, 17p12-q24.3 bölgesinin de allerjen cilt “prick” test pozitifliği ile ilişkili bölgeler olduğu saptanmıştır (48).

5q23-35 bölgesi, ADRB2 geni ve başka bir konum açısından klonlanmış astım geni CYPIP2 ile ilişkilendirilmiştir. Farklı kromozom bölgelerinde de bulunan altı astım adayı gen; ADAM33, NPSR1, PHF11, DPP10, HLA- G ve CYFIP2’dir. Astım veya astım ilişkili fenotipler ile ADAM33, NPSR1 ve CYFIP2 arasındaki ilişki daha önceki çalışmalarda Çin ve Japonya gibi Doğu Asya popülasyonlarında çalışılmıştı. DPP10 ve HLA-G bronşial hipersensitivite ile PHF11 ise antijene bağlı cilt reaksiyonu ile ilişkilendirildi (49).

17q21 bölgesi, IL1RL1/IL18R1 bölgesi, TSLP ve IL33 Avrupa ve Amerika’da yapılan iki büyük metanalizde ilişkili gen bölgeleri olarak tespit edilmiştir (50,51).

Astımlı hastaların yakın akrabalarında astım prevalansının artmış olması hereditenin rolünü düşündürmektedir. Astımlı çocukların birinci derecedeki akrabalarında astım görülme prevalansının üç kat fazla olduğu ve bu farkın atopik astımlılarda, atopik olmayanlara göre daha da fazla olduğu bildirilmiştir (52).

İsveç’li 7000 ikiz üzerinde yapılan bir çalışmada tek yumurta ikizlerinde semptom birlikteliği %19, çift yumurta ikizlerinde ise %4.8 olarak bildirilmiştir (53).

Başka bir çalışmada da iki kardeşte birden hava yolu aşırı duyarlılığı, serum total ya da spesifik IgE düzeyi yüksekliğinin saptanması ve deri testi pozitifliği monozigot ikizlerde dizigotlara göre daha sık bulunmuştur (54).

Atopi varlığı astım için bilinen en önemli genetik risk faktörüdür (55,56).

Dünya Sağlık Örgütü ve Dünya Allerji Organizasyonu verilerine göre dünya nüfusunun yaklaşık %40’ının atopik olduğu tahmin edilmektedir (43).

“ISAAC” çalışmasında da astım ve atopi arasında çok güçlü bir ilişki olduğu bildirilmiştir (55).

Atopi, bir kişinin ya da ailenin çevresel allerjenlere karşı IgE yapısında antikor oluşturma eğilimidir. Atopi, in vitro olarak serumda total veya spesifik IgE yüksekliği ile in vivo olarak ciltte “prick” testi pozitifliği ile değerlendirilir. Atopik bireylerde genetik faktörler, hastalığın ağırlığını belirlemektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda 11. kromozomun uzun kolundaki bir genin atopiyi belirlediği ve dominant özellikte olduğu ortaya konmuştur. Bu geni taşıyanların çoğunda allerjik semptomlar bulunmuş ve bir kısmı astımlı olarak tanımlanmıştır. Bu 11. Kromozomun uzun kolu “allerjenin non-spesifik duyarlılık kromozomu” olarak isimlendirilmiştir (57,58).

Astım için bir risk faktörü olan hava yolu aşırı duyarlılığının genetik kontrol altında olduğu düşünülmektedir. Non-astmatik ebeveynlerinde hava yolu aşırı yanıtılığını %50 oranında bulurken; astımlı olmayan çocukların ebeveynlerinde bu oran %10 düzeyinde

bulunmuştur. Bu sonuçlar havayolu aşırı duyarlılığının otozomal dominant geçişini düşündürmektedir (59).

Tablo 1. Astım ile ilişkili gen ve kromozomlar

KROMOZOM	GEN	GÖREVLERİ
20p13	ADAM33	Bronş düz kasında kasılma Havayolu remodellingi
16p12	IL-4RA	IL-4 ve IL-13 reseptörlerin biçimlendirilmesi
14q11	TCR	Alerjenlere karşı T-lenfosit yanıtı
13q14	PHF11	Lenfosit aktivasyonu ve Ig sentezinin düzenlenmesi
11q13-21	FcεRI	Mast hücrelerinin yüzey reseptörlerinin aktivasyonunun düzenlenmesi
7p15	NSR1F	Bronş düz kası hücresi ve epitelinde bulunur
6p21-24	MHC TNF LTa	Alerjen yanıtında Ig E sınırlayıcı İnflamatuar yanıt mediyatörü TNF gen ekspresyonunu düzenler
5q23-35	Sitokin kümesi TIM ailesi P40 ADBR2 CD14	IL-4,IL-13,GM-CSF ve IL-19 üretimini düzenler Hava yolu düz kasını düzenler
2q14	DPP10 T-bet, GATA-3 FOXP3	Th 1,Th 2, Treg hücrelerin birbirine dönüşümünü düzenler

Bronş aşırı duyarlılığının IL-3, IL-4 ve GM-CSF'yi kapsayan sitokin genlerinin bulunduğu bir kromozomal bölgeye (5q31) bağlanmış olduğu bildirilmiştir. Kolinerjik uyarılara karşı bronşlardaki aşırı duyarlılığın bağımsız bir otozomal resesif genle geçtiği deneysel olarak gösterilmiştir. Bu nedenlerden dolayı bronşiyal astmada tam olmayan poligenik bir sistem ile geçiş olduğu düşünülmektedir. Tümör nekrozis faktör-alfa (TNF-α), β2 adrenerjik reseptör(B2AR), disintegrin, metalloproteaz-33(ADAM-

33), CD-14 ve lökotrien C4 sentaz(LTC4S) gibi astımla ilişkili gen bölgelerinin tekli nükleotid polimorfizmleri de tanımlanmıştır (60,61).

Genetik farklılıkların astım ve astımla ilişkili fenotipler üzerindeki etkisi yüksek seviyede heterojenite göstermekte olup, çevresel faktörlerin yoğun etkisi altında olabilir (62,63).

Dolayısıyla astım gelişen pek çok çocuğun ebeveynlerinde astım yokken, astım görülen pek çok ebeveynin çocuklarında da astım ortaya çıkmamaktadır (64).

Yapılan çalışmalarda IL-4 kodlanması ve IL-4RA geninin Arg551 alleli arasındaki ilişkinin ya da IL4RA-S478P ve IL13-1111C/T gen polimorfizmlerinin, astım gibi allerjik hastalıklarda farklı fenotipik özelliklere neden olduğu gösterilmiştir (65).

Genetik serilere göre multipl populasyon örneklerinde astım ve atopi ile ilişkili olabilecek yaklaşık 19 kromozom ve 118 gen tanımlanmıştır. Birçok araştırma grubu özellikle 5q, 11q, 6p, 12q, 13q gibi bazı lokalizasyonlar üzerinde yoğunlaşmaktadır. ORMDL3 ve GSMDL genlerini kodlayan 17q21 lokusundaki varyasyonlar erken çocukluk çağı astımında spesifik olarak risk oluşturmaktadır (66).

Bu lokalizasyonlarda bulunan beta-2 adreno-reseptör geni, IL-4 sitokin demeti, IL-13 geni ve CD-14 geni allerji ve astımla ilişkili aday genlerdir (67).

Astımda inflamatuvar hücrelerin rolünü etkileyen farklı düzenleyici genlerin belirlenmesi, bu hastalıkta hangi genlerin rol oynadığının gösterilmesi açısından önemlidir. Bazı çalışmalarda mast hücrelerinde eksprese edilen farklı genler raporlanmıştır (68).

Dünya çapında farklı populasyonlarda çok sayıda aday gen belirlenmiştir. Bunlar; immunité ve immün regülasyonda rol alan genler, T helper-2 hücre farklılaşması ve efektör fonksiyonlarda rol alan genler, epitel biyolojisi ve mukozal immunité ile ilişkili genler ve akciğer fonksiyonları, havayolu “remodelling”i ve hastalık ciddiyetini belirleyen genler olmak üzere dört kategoriye ayrılabilir (69).

2.1.4.Astım Patogenezi

Astım hava yollarının kronik inflamatuvar bir hastalığı olup patogenezinde kompleks mekanizmalar rol oynamaktadır (70).

Allerjenler vücuda üst ve alt solunum yolundan girerler ve giren bu antijenler, epitel hücreleri arasında bol miktarda bulunan ve kemik iliği kökenli dentritik hücreler tarafından fagosit edilip lizozomal enzimler ile küçük peptid yapılara dönüştürülürler. Bu dönüşüm sonrasında küçük peptid yapılara dönüşen allerjenler, dentritik hücrelerin yüzeyinde bulunan “Major Histocompatibility (MHC) Class II” içinde bölgesel lenf nodu içindeki CD4⁺ lenfositlere sunulur (71).

Antijenin CD4⁺ lenfositlere sunulması ile bu hücreler aktive olur ve farklı immün yanıtın gelişmesine neden olan iki ayrı alt gruba farklılaşır. Bunlar Th-1 (T helper -1) ve Th-2 (Thelper -2) lenfositlerdir. Th-2 tipi CD4⁺ T lenfositler tüm allerjik hastalıklarda olduğu gibi astımda gelişen immün yanıtta da etkin ve anahtar rolü oynar. Th1 ve Th2’ye ek olarak diğer T hücre alttipleri yani regülatuvar T hücre (T reg) ve Th17 hücreleri gibi hücreler de astımlı hastalarda tespit edilmiş ve bu hücrelerin hastalığın seyrini etkilediği düşünülmüştür. T lenfositlerin Th-1 ve Th-2 olarak farklılaşmasında değişik faktörler rol oynar. Eğer ortamda IL-4 yoğun olarak bulunuyorsa Th-0 hücreler Th-2 olarak farklılaşırken, IL-12 ve IFN- γ ’nın yoğun olarak bulunması Th-1 yönünde farklılaşmaya neden olmaktadır. IL-6 ise CD4⁺ Th-2 lenfositlerin allerjik yanıtaki devamlılığını sağlar (72).

Düzenleyici T hücreleri IL-10 bağımlı olarak çalışırlar ve ortamda IL-10 varlığında Th-0 hücreler T reg hücrelerini oluşturur. Treg lenfositler IL-10 ve transforming büyüme faktörü-beta (TGF- β) salgılayarak Th1 ile Th2 üzerine immün yanıtı baskılama özelliğine sahiptir (73,74).

Allerjik inflamasyonun temeli allerjene spesifik IgE oluşmasıdır. Th2 lenfositlerden salınan IL-4 ve IL-13 aracılığıyla B lenfositlerden IgE sentezi gerçekleşir. Sentezlenen IgE, yüksek afiniteli IgE reseptörü taşıyan mast hücre ve bazofile, düşük afiniteli IgE reseptörü taşıyan lenfosit, eozinofil ve makrofaja bağlanır. Tekrar allerjen maruziyetinde, allerjen mast hücre üzerinde kendisi için hazır bekleyen IgE molekülüne bağlanarak mast hücresinin aktive olmasına ve mediatörlerin salınımına neden olur. Bu

mediatörler erken evrede vazodilatasyon ve mikrovasküler kaçak dışında hava yolu kontraksiyonu oluşturur, duyuşal sinir liflerini ve mukus sekresyonunu stimüle eder (75-77).

Böylece allerjik inflamasyonun ilk klinik bulgusu olan erken faz reaksiyonu gerçekleşmiş olur. 6-8 saat sonra asıl olarak hücreşel elemanların rol oynadığı geç faz cevabı gözlenir. Astımda inflamasyon, geç evre reaksiyonu sonucunda ve pek çok hücrenin kompleks etkileşimi ile ortaya çıkar. Geç faz yanıtı başlıca eozinofiller olmak üzere lenfosit, bazofil, makrofaj ve nötrofillerin karmaşık etkileşimi ile ortaya çıkar. Astım asemptomatik olsa bile bu değişiklikler bulunabilir ve hastalığın klinik şiddeti ile yakından ilişkilidir.

Mast hücresi hem erken hem geç faz cevabında önemli rol oynar ve salgıladığı sitokin ve mediatörler ile eozinofilleri aktive eder. Aktive olmuş mukozal mast hücreleri bronkokonstriktör etkiler gösteren medyatörler (histamin, sisteinil lökotrienler, prostaglandin D2) salıverir. Bu hücreler yüksek afiniteli IgE reseptörleri vasıtasıyla allerjenler ve osmotik uyarılar (egzersize bağlı bronkokonstriksiyondan sorumludur) tarafından aktive edilir. Hava yolu düş kaslarında mast hücresi sayısının artması hava yolu aşırı duyarlılığıyla ilişkilidir.

Makrofajlar enflamatuvar yanıtı güçlendiren medyatörler ve sitokinler salıverir. Tümör nekroz faktör- α (TNF- α) ve metalloproteinazları salgılayarak hava yolunun yeniden yapılanmasına katkıda bulunur.

T hücresi, mast hücresi ve aktive olmuş epitel hücresinden salınan IL-3, IL-5 ve GM-CSF (granülosit monosit koloni stimüle edici faktör), kemik iliğinde eozinofil farklılaşmasına ve çoğalarak dolaşıma geçmesine yol açarlar. Dolaşıma geçen eozinofil ve lökositlerin reaksiyon bölgesinde damarda kalabilmeleri E-P selektin, ICAM-1 (interselüler adezyon molekülü-1) ve VCAM-1 (vasculer cell adhesion molecule-1) ile olur. Bu bölgede eozinofillerin damardan dokuya geçişi de eotaksin 1, eotaksin 2, eotaksin 3, RANTES (Regulated on Activation, Normal T Cell Expressed and Secreted), MCP-3 (monosit kemotaktik protein-3), MCP-4 (monosit kemotaktik protein-4) gibi kemokinler ile sağlanır. Eozinofil içeriğinde bulunan toksik ürünler olan sisteinil lökotrienler, eozinofilik katyonik protein (ECP), eozinofilik peroksidaz (EPO), MCP, eozinofil kökenli nörotoksin (EDN) ile olayın geçtiği bölgede doku hasarına yol

açar. Ayrıca matriks yıkımına neden olan matriks metalloproteazlarını (MMP) sentezler. Remodelling (yeniden yapılanma) diye adlandırılan bu olaylar havayolunun geri dönüşümsüz değişimine neden olur. Temel inflamatuvar hücreler dışında hava yolunun yerli hücreleri olan epitel, endotel, düz kas hücreleri ve fibroblastlarda ürettikleri mediatör, sitokin ve kemokinler yolu ile önemli ölçüde efektör rol oynarlar ve inflamasyonun devamından sorumludurlar (77-82).

2.1.4.1. Astımda Havayolu İnflamasyonu

Astımda havayolu inflamasyonu temel ve değişmez bir özelliktir. Havayollarındaki inflamasyon sürekli olarak devam etmektedir ancak semptomlar epizodik olarak görülür. İnflamasyonun yoğunluğu ile astımın şiddeti arasındaki ilişki açık değildir (83,84).

2.1.4.2. Astım Patogenezinde Rol Alan İnflamatuvar Hücreler

a. Mast hücreleri: Mukoza yerleşimli mast hücreleri, allerjenler ve ozmotik uyarılar ile IgE reseptörleri aracılığı ile aktive olduklarında histamin, sisteinil lökotrienler, prostoglandin D2 (PGD2) gibi bronkokonstriktör mediyatörler salınır. Havayolu düz kaslarındaki mast hücre sayısı, havayolu aşırı duyarlılığı ile ilişkili bulunmuştur (80).

b. Eozinofiller: Havayollarında artmış sayıda bulunurlar. Bazik protein salınımı ile havayolu epitel hücrelerinde hasara neden olurlar. Eozinofil infiltrasyonunun havayolu yeniden yapılanması (remodeling) ile ilişkili olduğu ve havayolu aşırı duyarlılığına katkıda bulunduğu gösterilmiştir (85).

c. T lenfositler: T lenfositler havayollarında fazla sayıda bulunurlar ve IL-4, IL-5, IL-9 ve IL-13 gibi birçok sitokin salınımıyla eozinofilik inflamasyonu kontrol ederler. B lenfositlerden IgE sentezine neden olurlar. Reglatuvar T hücre (Treg) hücrelerinin sayısal azlığının veya fonksiyon bozukluğunun çevresel allerjenlere toleransı bozarak allerji ve astıma neden olduğunu düşünülmektedir (86).

d. Dendritik hücreler: Dendritik hücreler havayolu yüzeyinden allerjenleri seçerek reglatuvar T hücreler ile etkileşimin gerçekleştiği bölgesel lenf nodlarına götürürler ve burada naif T hücrelerden Th2 oluşumunu stimüle ederler (87).

e. Alveolar makrofajlar: Alveolar makrofajlar, TNF- α , CXC kemokin ligand sekiz (CXCL 8) ve granülosit koloni stimüle edici faktör (GM-CSF) gibi proinflamatuvar sitokinler, çeşitli kemokinler, prostaglandinler ve lökotrien B4 (LTB4) salgırlarlar. Bu mediyatörler astımda inflamasyonun başlaması ve devam etmesinden sorumludur (81).

f. Nötrofiller: Nötrofillerin astımdaki patofizyolojik rolü tam olarak aydınlatılamamıştır. Ancak sigara içen ve ciddi astımı olanların havayollarında nötrofil sayısının artmış olduğu gösterilmiştir (88).

2.4.1.3 Astım Patogenezinde Rol Alan Havayolu Yapısal Hücreleri

Havayollarının yapısal hücreleri, çeşitli mediyatörler ve büyüme faktörleri salgılayarak astım patogenezinde katkıda bulunurlar.

a. Havayolu epitel hücreleri: Bu hücreler mekanik çevrelerini algılayarak çok çeşitli inflamatuvar proteinleri eksprese eder ve sitokin, kemokin ve lipit mediyatörler salarlar.

b. Havayolu düz kas hücreleri: Düz kas hücrelerinin histamin ve lökotrienler gibi mediyatörler aracılığı ile kasılması bronkokonstriksiyona neden olmakla birlikte salgıladığı çok sayıda proinflamatuvar mediyatör, sitokin ve büyüme faktörü havayollarındaki inflamasyona katkıda bulunur. Düz kas hücreleri hipertrofiye uğrayarak remodeling sürecinde de görev alırlar (89).

c. Endotel hücreleri: Bronşiyal dolaşımda yer alan endotel hücreleri dolaşımdan havayoluna inflamatuvar hücrelerin geçişini sağlarlar.

d. Fibroblast ve miyofibroblastlar: Remodelingde görev alan kollajen ve proteoglikanlar gibi bağ dokusu komponentlerini salgılamakla görevlidirler.

e. Havayolundaki sinirler: Kolinerjik sinir lifleri havayollarındaki çeşitli refleks mekanizmalar ile tetiklendiklerinde bronkokonstrüksiyona ve mukus sekresyonuna yol açarlar. Nörotropinleri içeren inflamatuvar uyarılar ile duyarlanan duysal sinirler ise refleks değışikliklere ve öksürük, nefes darlığı gibi semptomlara neden olurlar (90).

2.4.1.4. Astım Patogeneğinde Rol Alan Temel Mediyatörler

Astım patogeneğinde rol oynayan aktive olmuş mast hücreleri, eozinofiller, T hücreleri ve havayolunun yapısal hücreleri 100'den fazla farklı mediyatör salgılayarak kompleks inflamatuvar yanıtı meydana getirirler.

a. Kemokinler: Havayollarında inflamatuvar hücrelerin birikiminde rol oynayan kemokinler temel olarak havayolu epitel hücrelerinde eksprese olurlar. Eotaksin eozinofillerin, timus ve aktivasyon ilişkili kemokin (TARC) ve makrofaj kaynaklı kemokin (MDC) ise Th2 hücrelerin göçüne neden olmaktadır (91).

b. Sitokinler: Sitokinler, astımda inflamatuvar yanıtı yönetir ve hastalık şiddetini belirlerler. IL-1 β ve TNF- α gibi anahtar sitokinler inflamatuvar yanıtı artırır, GM-CSF eozinofillerin havayollarındaki yaşam süresini uzatır. Th2 kaynaklı sitokinlerden IL-5, eozinofil diferansiyasyonu ve yaşamı için, IL-4 Th2 diferansiyasyonu, IL-13 ise IgE oluşumu için gereklidir (91).

c. Histamin: Histamin, havayollarındaki mast hücrelerinden ve dolaşımdaki bazofillerden salınır. Astımda en önemli etkisi bronkokonstriksiyondur. Bunun yanı sıra kapiller permeabilite artışına ve mukus sekresyonuna neden olur (91).

d. Sisteinil lökotrienler: Mast hücreleri ve eozinofiller tarafından salınan lökotrienler güçlü bir bronkokonstriktör olup aynı zamanda plazma eksudasyonuna ve mukus sekresyonuna neden olurlar. Lökotrienler, inhibe edildiklerinde akciğer fonksiyonlarında ve astım semptomlarında iyileşme görülen tek mediyatör grubudur (92).

e. Nitrik oksit: Havayolu epitel hücrelerinde indüklenebilir nitrik oksit (NO) sentaz ile üretilen güçlü bir vazodilatördür. Nefes havasında atılan NO astımda inflamasyon belirteci olarak tedavinin etkinliğini değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (91).

f. Prostaglandin D₂: Mast hücrelerinden köken alan bir bronkokonstriktördür ve havayoluna Th2 göçünde rol oynamaktadır (1).

g. Nükleer faktör kappa B: Nükleer faktör kappa B (NF- κ B), allerjik astım patogeneğinde kritik rolü olan bir transkripsiyon faktörüdür (93-95).

2.1.5. Astımda Havayolunda Görülen Yapısal Değişiklikler Ve Yeniden Yapılanma

Astımda, havayolu inflamasyonuna ek olarak havayolunun yeniden yapılanması veya remodeling olarak tanımlanan bir takım karakteristik yapısal değişiklikler gerçekleşir. Bu değişiklikler, havayollarındaki inflamasyon sonucu oluşan hasarın tamir mekanizmalarından olmakla birlikte hastalığın şiddetinin artışına ve geriye dönüşümsüz havayolu darlığına neden olabilir (82).

a. Subepitelyal fibrozis ve bazal membran kalınlaşması: Havayolu epitelindeki bazal membran kalınlaşması astımın karakteristik özelliklerinden biridir. Astımlı hastalarda bazal membran altında kollajen liflerin ve proteoglikanların birikimi sonucu gelişen subepitelyal fibrozis henüz semptomlar başlamadan bile saptanabilir. Epitel hücreleri, makrofajlar, eozinofiller, lenfositler ve fibroblastlar tarafından sentez edilen transforme edici büyüme faktörü beta (TGF- β) ekstraselüler matriks oluşumunu stimüle eder. Bu sitokinin ekspresyonu subepitelyal fibrozis ile ilişkili bulunmuştur. Fibrozis havayollarının diğer tabakalarında da görülmektedir (1).

b. Havayolu düz kas tabakasında kalınlaşma: Düz kas hücrelerinin hipertrofisi ve hiperplazisi ile havayolunun kalınlığı ve havayolu düz kas yoğunluğu artar. Düz kas hücreleri çeşitli sitokinler, büyüme faktörleri veya matriks proteinleri salgılayarak ve adhezyon moleküllerini eksprese ederek havayolu remodelingini gerçekleştirmektedirler (96).

c. Vasküler proliferasyon: Vasküler endotelial büyüme faktörü ile ilişkili olarak gelişen hava yolu damarlarındaki proliferasyon havayolu duvar kalınlığını arttıran bir faktördür (97).

d. Goblet hücre hiperplazisi: Hava yolu remodelinginin bir bulgusu da havayolu epitelindeki goblet hücre sayısındaki artış ve buna bağlı olarak aşırı mukus üretimidir. IL-4, IL-5, IL-9 ve IL-13 gibi Th2 sitokinlerin goblet hücre metaplasisine neden olarak mukus sekresyonunu arttırdığı bilinmektedir (98).

2.1.6. Astım Tanı

Çocuklarda astım tanısı büyük oranda öyküden konur. İyi alınmış bir öykü tanıda altın standarttır. Öykü yanında fizik muayene, labarotuar testleri ve solunum fonksiyon

testleri kullanılır. Astım tanısı, çoğu zaman tekrarlayan solunum sıkıntısı, öksürük atakları ve hırıltı yakınmalarının varlığında konur. Mevsimsel değişiklik, ailede atopik veya astımlı birey varlığı da astım tanısını düşündüren önemli bulgulardır. Bir çocukta viral infeksiyon, egzersiz ve allerjen ile karşılaşma sonucu tekrarlayıcı özellikte hışıltı ve/veya öksürük oluşuyorsa astım akla gelmelidir.

2.1.6.1 Tıbbi Öykü

Astım tanısının konulması sırasında dikkate alınması gereken sorular sıralanmıştır.

- Hastada bir kez ortaya çıkan ya da tekrarlayan hışıltılı solunum atağı öyküsü var mı?
- Hastada geceleri sorun yaratan bir öksürük var mı?
- Hastada egzersiz sonrasında öksürük ya da hışıltılı solunum meydana geliyor mu?
- Hastada solunum ile alınan allerjenlere ya da hava kirliliğine maruz kalma sonrasında hışıltılı solunum, göğüste sıkışma hissi ya da öksürük meydana geliyor mu?
- Hastanın soğuk algınlığı “göğsüne iniyor” ya da iyileşmesi 10 günden fazla sürüyor mu?
- Semptomlar uygun astım tedavisi ile düzeliyor mu? (90).

Fiziksel aktivite birçok astım hastasında semptomların meydana gelmesinde önemli bir rol oynarken, bazı hastalarda tek nedendir. Egzersize bağlı bronkokonstriksiyon tipik olarak egzersiz bittikten 5–10 dakika sonra başlar (nadiren egzersiz sırasında ortaya çıkar). Hastalarda 30–45 dakika içinde kendiliğinden kaybolan tipik astım semptomları, bazen de şiddetli bir öksürük meydana gelir. Koşma gibi bazı egzersizler daha güçlü tetikleyicilerdir. Egzersize bağlı bronkokonstriksiyon her türlü iklim koşulunda ortaya çıkabilir; ancak kuru ve soğuk havada daha sık, sıcak ve nemli iklimlerde ise daha nadir görülür. Egzersiz sonrasında ortaya çıkan semptomların inhale beta 2-agonist kullanımı sonrasında hızla düzelmesi ya da egzersiz öncesinde inhale beta 2-agonisti kullanımı ile önlenmesi, astım tanısını destekler (99).

2.1.6.2 Fizik Muayene

Astım semptomları değişken olduğundan solunum sisteminin fizik muayenesi normal olabilir. Atak sırasında hava yolu daralmasını gösteren ekspiratuvar hışıltı, ekspiryumun uzaması ve ronkus duyulması en sık rastlanan muayene bulgusudur (100).

Şiddetli astım alevlenmelerinde bazen hışıltılı solunum hava akımının ve ventilasyonun ciddi ölçüde azalmasına bağlı olarak duyulmayabilir. ‘Sessiz akciğer’ denilen hava giriş ve çıkışının tamamen durması ile ilişkili tablo ortaya çıkabilir. Ancak bu durumdaki hastalarda genellikle siyanoz, uyku hali, konuşma güçlüğü, taşikardi, göğüste hiperinflasyon, yardımcı solunum kaslarının kullanımı ve interkostal çekilmeler gibi alevlenmeyi ve şiddetini yansıtan diğer fizik muayene bulguları vardır (101).

Astım alevlenmesi sırasında ortaya çıkan hiperinflasyon hastaların hava yollarının dışa doğru retraksiyonunu artırmak ve daha küçük hava yollarının açıklığını korumak amacıyla daha yüksek akciğer hacimlerinde solunum yapmaktan kaynaklanır. Astımlı hastaların büyük çoğunluğunda allerjik rinit görülebildiğinden, fizik inceleme sırasında nazal pasaj da değerlendirilmelidir.

2.1.6.3 Tanısal Testler

Eozinofil sayısı

Birçok çalışmada eozinofillerin; havayolu epitel hasarında rol oynadığı, akciğer fonksiyonlarında, bronş aşırı duyarlılığında olumsuz etkileri saptanmıştır. Martinez ve ark.'ları tarafından artmış eozinofil sayısının, çocuklarda gelecekteki artmış astım riskinin bir göstergesi olabileceği bildirilmiştir (102).

Periferik kanda eozinofillerin 400/ μ L veya %4 ve üzerinde olması eozinofili olarak tanımlanır. Allerjik hastalıkların varlığında her zaman eozinofili olmayabileceği gibi, eozinofili de her zaman allerjik hastalığı göstermez (103).

Solunum fonksiyon testleri

Spirometri, havayolu obstrüksiyonunu ve reverzibilitesini göstermesi nedeniyle astım tanısı koyabilmek için önerilmektedir. Spirometrik değerlendirmede, zorlu inspiryum ve zorlu ekspiryum manevraları ile 1.saniyedeki zorlu ekspiratuvar volüm (FEV1), zorlu

vital kapasite (FVC), tepe ekspiratuvar akım (PEF), FVC'nin %25, %50, %75 ve %25 ila %75'i arasındaki zorlu ekspiratuvar akım (FEF25, FEF50, FEF75, FEF25-75) parametreleri ölçülür ve aynı yaş ve boydaki sağlıklı kişilerin değerleri ile karşılaştırılır (104).

FEV1/FVC oranının düşük olması ve bronkodilatör uygulanması sonrasında FEV1 değerinde %12'lik veya 200 ml'lik bir artış astımdaki geri dönüşümlü havayolu obstrüksiyonunu göstermesi açısından anlamlıdır. Spirometrik inceleme, güce bağlı olması ve kooperasyon gereksinimi nedeniyle beş yaş altı çocuklarda ve koopere olamayan kişilerde yapılamamaktadır (105).

Pefmetre ile yapılan PEF ölçümü de, astım tanısı ve izleminde kullanılabilir. Hasta kendi pefmetresini kullanarak yaptığı şikayetsiz dönemindeki en iyi ölçümü bazal değer olarak kaydeder. Aynı gün içinde sabah ve akşam ölçümlerinde PEF değerinin %20'den fazla değişmesi astımı düşündürmektedir. Yine semptomlu dönemde ölçülen PEF değerinin bazal değer ile kıyaslanması atak şiddeti hakkında fikir vermekte ve hastanın kendi astım kontrolünü yapabilmesine yardımcı olmaktadır.

Bronş provokasyon testleri

Astım ile uyumlu semptomları olup solunum fonksiyon testleri normal bulunan hastalarda astım tanısı için bronş provokasyon testlerinden yararlanılır. İn hale metakolin ve histamin havayolunu direkt olarak uyaran testler, mannitol ve egzersiz ise indirekt uyaran testler arasında sayılabilir (106).

Allerjen duyarlılığının belirlenmesi

Deri testleri IgE aracılı allerjen duyarlılığını göstermede en sık kullanılan testlerdir. Bu testlerde ticari olarak hazırlanmış allerjen ekstraktları ile birlikte pozitif kontrol olarak kullanılan histamin, negatif kontrol olarak %0,9 NaCl ön kol volar yüze veya sırtta uygulanır. Prik lansetler veya özel olarak bu amaçla hazırlanmış cihazlar kullanılarak allerjen deri içine iletilir. Kişinin duyarlı olduğu allerjenin bulunduğu bölgedeki mast hücrelerinin degranüle olması sonucunda kabarıklık, kızarıklık ve kaşıntı oluşur. Testin uygulanmasından 10-15 dakika sonra oluşan kabarıklığın çapı negatif kontrole göre en az 3 mm fazla ise test o allerjen için pozitif olarak kabul edilir.

Spesifik IgE ölçümü, özellikle deri testinin uygulanamadığı hastalarda kişinin duyarlı olduğu allerjenin saptanmasında kullanılır. Antihistaminiklerden etkilenmemesi avantaj olmakla birlikte sensitivite ve spesifitesinin azlığı, maliyetinin deri testlerinden daha fazla olması dezavantajlarıdır (107).

Yoğunlaştırılmış nefes havası

Yoğunlaştırılmış nefes havası (YNH) dışarıya verilen nefes havasının soğutulup yoğunlaştırılarak toplanmasıdır. Yoğunlaştırılmış nefes havası toplanması hava yolu fonksiyonu veya inflamasyonunu değiştirmez ve küçük çocuklarda bile kolayca uygulanabilir. Verilen nefes havasının her mililitresinde 0,1-4 damla su buharı bulunur. Bu damlalar 0.09-3 cm çapındadırlar ve hava yolu yüzeyindeki sıvıdan elde edilirler. Bu damlaların analiziyle akciğerlerdeki fizyolojik ve inflamatuvar durumlar non-invaziv olarak gösterilebilir (108).

Yoğunlaştırılmış nefes havası dışarıya verilen nefes havasının soğutulması veya dondurulması ile toplanır. Yoğunlaştırılmış nefes havası ile yapılan ilk çalışmalar Rusya'da 1980'lerde yoğunlaştırılmış nefes havasında bulunan pulmoner sürfaktanı tanımlayan çalışmalardır. Günümüzde yoğunlaştırılmış nefes havasında çeşitli inflamatuvar mediyatörler, oksidanlar ve iyonlar tanımlanmıştır. Yoğunlaştırılmış nefes havasının kimyasındaki ve dışarıya verilen belirteçlerdeki anomaliler inflamasyon ve oksidatif stres tarafından oluşturulan hava yolu sınırlayıcı sıvısının intrensek anomalilerini yansıtır ve akciğer hastalıklarının kıymetli bir izlem aracı olabilir. 1-3 ml yoğunlaştırılmış nefes elde edilmesi için 10-15 dakikalık nefes alıp verme gereklidir ve ağır hava yolu obstrüksiyonu olan hastalar ve çocuklar tarafından kolayca tolere edilebilir (109).

Astımın takibi klinik semptomlar ve solunum fonksiyon testi ile yapılır. Ancak hava yolu inflamasyonunu göstermede kullanılan yöntemlerden çok azı noninvazivdir (110).

Ayrıca plazma ve idrarda ölçülen inflamatuvar mediyatörler akciğerden çok sistemik inflamasyonu yansıtır. Oysaki inflamatuvar mediyatörlerin yoğunlaştırılmış nefes havasında ölçülmesi tamamen non invazivdir ve solunum yollarındaki inflamasyonu yansıtır. Yoğunlaştırılmış nefes havasındaki inflamatuvar belirteç düzeyi tayinlerinin atopik çocuklarda üst ve alt hava yollarındaki inflamasyonu, hastalık şiddetini ve yeni

tedavilerin etkinliğini değerlendirmede ve izlemede kullanışlı invaziv olmayan bir yöntem olduğunu belirten çalışmalar mevcuttur (111).

2.1.7. Astım Tedavisi

Astım tedavisine ilişkin oneriler, tedavinin birbiriyle ilişkili dört bileşeninden oluşmaktadır:

1. Hasta/Hekim işbirliğinin geliştirilmesi
2. Risk faktörlerine maruziyetin tanımlanması ve azaltılması
3. Astımın değerlendirilmesi, tedavisi ve izlenmesi
4. Astım alevlenmelerinin tedavisi

Astım tedavisinde kullanılan ilaçlar kontrol edici ilaçlar ve rahatlatıcı ilaçlar olarak sınıflandırılırlar. Kontrol edici ilaçlar esas olarak antiinflamatuvar etkileri ile astımın kontrolünü sağlamak üzere her gün ve uzun süreli kullanılan ilaçlardır. Bu grup; glukokortikosteroidleri, lökotrien reseptör antagonistlerini, uzun etkili inhale β 2-agonistleri, yavaş salınan teofilini, anti-Ig E'yi ve sistemik steroid dozunun azaltılmasını sağlayan diğer tedavileri içerir. Rahatlatıcı ilaçlar ise hızlı etki ederek bronkodilatasyon yapan, semptomları gideren ve gerektiğinde kullanılan ilaçlardır. Bu grup; hızlı etkili inhale β 2-agonistleri, inhale antikolinergikleri ve kısa etkili teofilini içerir. Her hasta, güncel tedavi rejimi, güncel rejime uyum ve astımın kontrol düzeyinin belirlenmesi açısından değerlendirilmelidir. Belirli bir haftadaki kontrol düzeyine göre tedavi planlanmaktadırUluslararası Astım Tanı ve Tedavi Rehberi'nde başlangıçta astım tedavisinin astım şiddetine göre planlansa bile takipte astım kontrol düzeyinin kıstas alınarak uzun süreli astım tedavisinin planlanmasını önermektedir (112).

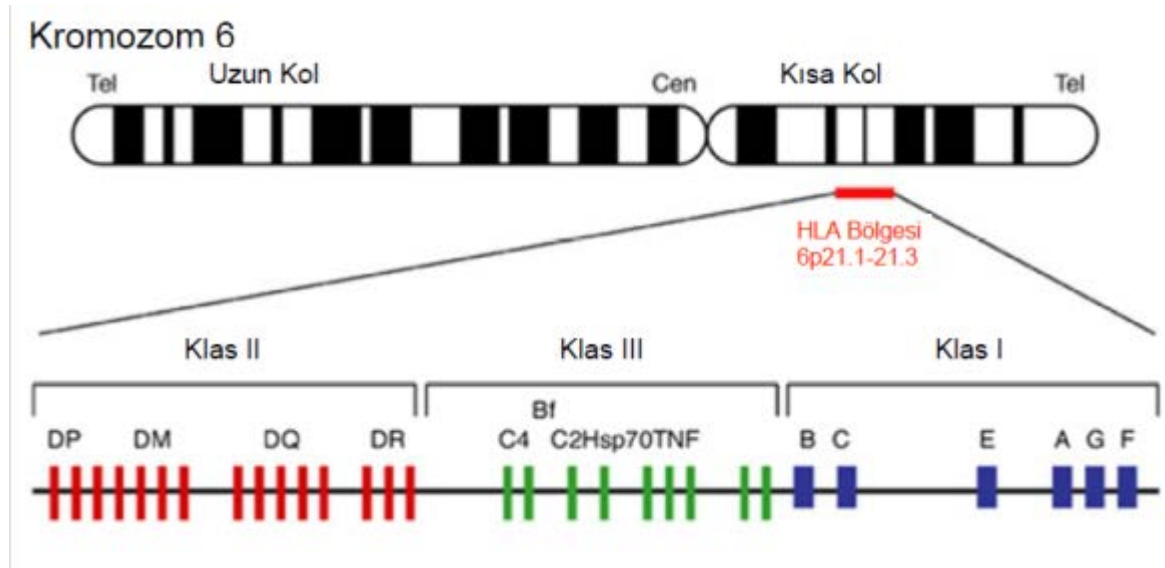
2.2 HLA

2.2.1 HLA Sistemi

İmmün sistemin başlıca görevi, organizmayı yabancı moleküllere ve mikroorganizmalara karşı savunmada onları tanımak ve çeşitli effektör mekanizmalarla cevap vermektir. İmmün tanımada yabancı antijenleri self olanlardan ayırt etme görevi

başlıca MHC (Major Histocompatibility Complex) molekülleri yani doku uygunluk antijenleri ile gerçekleşir. Hücre yüzeyinde bulunan MHC molekülleri yabancı antijenleri bağlar ve immün sistemin efektör hücrelerine sunarak immün cevabın başlamasında anahtar rol oynar. MHC molekülleri yüksek derecede immünojenik olduklarından transplantasyonda alıcı ve verici arasında farklı MHC molekülleri yabancı antijen olarak fark edilir ve immün cevabı uyatarak rejeksiyon mekanizmalarını başlatır. Bu nedenle MHC molekülleri transplantasyon antijenleri olarak da bilinirler. MHC yerine HLA (Human Leucocyte Antigen) terimi de kullanılır.

İnsanlardaki MHC veya HLA, 6. kromozomun kısa kolu üzerinde 4Mb büyüklüğünde olup 130 fonksiyonel geni vardır. Bunlardan en iyi tanımlananları klasik HLA la ve 2 genleridir (HLA-A, -B, -C, -DR, -DQ ve -DP) Organ transplantasyonu, antijen-peptid tanınması ve otoimmün hastalıklar ile ilgileri bakımından iyi bilinen tipleridir (113).



Şekil 2. HLA (Human Leukocyte Antigen) bölgesi Gen haritası

İmmün sistemin antijeni tanımasında Klas I ve Klas II MHC moleküllerinin önemli rolü vardır. Endojen antijenler örneğin virüs ile enfekte hücrede oluşan viral peptit Klas I molekülüne bağlanarak hücre yüzeyinde eksprese olur ve CD8+ T hücreler bu peptidi tanır. Daha sonra immün yanıtın diğer aşamaları gerçekleşerek virüs ile enfekte hücre öldürülür. Ekzojen antijenler MHC Klas II molekülüne bağlandığında CD4+ T hücreler tarafından tanınarak bu hücrelerin aktivasyonu ve proliferasyonu ile immün yanıt gerçekleşir.

HLA-G Nedir?

HLA-G, sitotrofoblast hücreleri üzerinde maternal-fetal kesişimle seçici olarak eksprese olan, klasik olmayan bir HLA Klass 1b molekülüdür. HLA-G ilk olarak, uterin NK hücreleri üzerinde olan inhibitör reseptörlerinin ligandı olarak tanımlanmış ve böylece maternal-fetal toleransa katkı sağladığı gösterilmiştir (113).

HLA-A, HLA-B ve HLA-C klasik sınıf-I molekülüleri olarak tanımlanırken HLA-D, HLA-E, HLA-F ve HLA-G non-klasik sınıf-I molekülüleri olarak tanımlanmaktadır (114,115).

HLA antijenleri ile hastalık ilişkileri sıklıkla çalışılan bir konudur. Belirli HLA tiplerinin bazı hastalıklarda yüksek sıklıkta görülmesi bunların bir risk faktörü olabileceğini ortaya koymuş ve bazı toplumlarda belli HLA gruplarının sıklığının fazlalığı etnik farklılıkların da hastalıkların oluşumunda etkili olabileceğini göstermiştir. Yapılan çalışmaların sonuçları insanların enfeksiyonlara yatkınlığında, konağın genetik faktörlerinin rolü olduğunu, antijenlere karşı oluşan hücresel ve hümmoral immün cevapta kalıtımın etkisinin olabileceğini göstermiştir (116).

HLA-G Geni

Sağlıklı bireylerde, HLA-G gen transkripsiyonu temel seviyede birçok doku ve organda gözlenir. Buna rağmen, HLA-G proteinlerine translasyon trofoblast, timus, kornea, tırnak matrixi, pankreas ve eritroid ve endotel prekürsörlerle sınırlıdır. HLA-G'nin major izoformları membran yüzeyinden dökülen veya proteolitik olarak sekrete olan s-HLA-G1 ve HLA-G5'tir. s-HLA-G düzeyleri immün duyarlı hastalıklar, transplantasyon, malignensiler gibi değişik patolojik durumlarda yükselmektedir. s-HLA-G düzeyleri ve fonksiyonu nöroblastom gibi pediatrik tümörlerde yükselme göstermektedir. Bunun immün kaçış mekanizması ile ilgili olduğu düşünülmektedir (117,118).

HLA-G molekülünün pek çok tümör dokusu tarafından ifadelendiği ve tümör mikroçvre etkisi ile de tümörün immün sistem yanıtından kaçmasında rolü olduğu bilinmektedir. Tümör dokusu içinde sınıf-I molekülüleri ifadeleyen ve ifadelemeyen hücre grupları vardır. Bu hücrelerden sınıf-I molekülülerini ifadeleyen tümör hücreleri

tümöre spesifik sitotoksik T hücreler tarafından lizis ile yok edilirken sınıf-I molekülünü ifadelemeyen hücreler tümöre spesifik CTL etkisinden kaçabilir ve çoğalmaya devam ederler. Bu arada immünoinhibitör özelliği bilinen HLAG molekülünü yüzeyinde taşıyan tümör hücreleri de özellikle NK hücrelerinin oluşturması beklenen immün yanıtı baskılayarak çoğalmaya devam ederler. Tümör dokusu sınıf-I molekülünü ya tamamen ya dakısmen ifadelemeyen ve aynı zamanda inhibitör etkili HLA-G molekülünü ifadeleyen hücreler haline geldiğinde tümöre karşı oluşan immün yanıtın etkisi iyice azalacaktır. Yapılan bilimsel çalışmalarda da kanserli hastaların tümör dokularında, periferik kanlarında ve asit sıvısı gibi tümör mikroçevresindeki sıvılarda HLA-G varlığı saptanmıştır. HLA-G ile ilişkili kanserler arasında bazal hücreli kanser, malign melanom, mol hidatiform, akciğer kanseri, primer cilt lenfomaları, glioblastom, oligoastroitom, renal hücreli kanser, meme kanseri ve over kanseri sayılabilir. Bazı tümörlerin prognozu ile HLA-G ilişkisi olabileceği de gösterilmiştir (120,121).

Sekans homoloji çalışmaları ve kristalografik çalışmalarla, HLA-G'nin HLA-A2 ve HLA-E' ye benzediği gösterilmiş ve bu yapısal benzerliğin sınırlı bir peptit çeşitliliği olabileceği düşünülmüştür (115).

HLA-G'nin bağlandığı 3 inhibitör reseptör tanımlanmıştır. Bu inhibitör reseptörlerden immünglobulin benzeri kalıp-2 (ILT-2) ve ILT-4 diğer sınıf-I moleüller tarafından bağlanabilirken, öldürücü hücre immunoglobulin-benzeri reseptör, iki bölge, uzun sitoplazmik kuyruk, (KIR2DL4), yalnızca HLA-G tarafından bağlanabilmektedir. NK hücreleri KIR2DL4 ve ILT-2'yi ifadelerken, T ve B lenfositlerin tamamında ILT-2 ifadelenmesi olmaktadır. Dendritik hücreler, monositler ve makrofajlar da ILT-2 ve ILT-4'ü ifadelemektedir. Membrana bağlı ve çözünebilir HLA-G' ye bağlanan bu reseptörlerden ILT-2 ve ILT-4 diğer sınıf I moleüllere de bağlanabilirken, KIR2DL4 sadece HLA-G'ye bağlanmaktadır. Diğer sınıf-I moleüllerde olduğu gibi HLA-G de, T hücrelere CD8 üzerinden bağlanarak, Fas-Fas ligand bağımlı bir mekanizma ile bu hücrelerin apoptozunu indüklemektedir. CD8+ T hücrelerin sitolitik fonksiyonlarının, hedef hücre üzerinde ifadelenen HLA-G tarafından inhibe olduğu bilinmektedir.

HLA-G'nin genomik yapısı diğer sınıf 1 genlerine benzemesine rağmen pek çok bakımdan farklı özellikleri vardır. HLA-G geninin sekiz ekzonu vardır . Ekzon 1 sinyal

peptid olup al, a2 ve a3 (sırasıyla; ekzon 2, ekzon 3, ekzon 4) transmembran bölgesidir. HLA-G'nin a3 bölümü, sitotoksik T lenfositlerindeki CD8 glikoproteinleri ile etkileşim halindedir. Beşinci ekzon hidrofobik transmembran kısmını kodlar. HLA-G klasik HLA sınıf 1 moleküllerinden altıncı ekzondaki dur kodonuyla farklılık gösterir. Dur kodonundan dolayı sitoplazmik kısmın büyük bir bölümü translasyona uğramaz. 30 aminoasidin transle olması gerekirken 6 aminoasit translasyona uğrar ki; bu eksik translasyon HLA-G sitoplazmik kuyruğunun fosforilasyon bölgesi olan serin birimini ve tirozin kinazın substratı olan tirozin birimini kaybetmesine neden olur. Bu durum hücre yüzeyinde HLA-G'nin uzun sürede eksprese olmasına ve döngüsünün yavaş olmasına neden olmaktadır. Ekzon 5 ve intraselüler bölgeyi oluşturan ekzon 6 ve ekzon 7 diğer klas1 genleri ile benzerdir (122).

HLA-G molekülleri immün sistemin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamakta olup genin primer transkriptinin alternatif uç birleştirmesi sonucu 7 adet protein izoformu oluşmaktadır. HLA'nın G1'den G4'e kadar olan mRNA formları membran bağımlı molekülleri (HLA G1, HLA-G2, HLA-G3, HLA-G4), G5'ten G7'ye kadar olanlar ise çözülebilir molekülleri (HLA-G5, HLA-G6, HLA-G7) kodlamaktadır. Major izoformlar olan HLA-G1 ve HLA-G5, immünsüpresif etkilerini CD85j (ILT-2), CD85d (ILT-4), CD158d (KIR2DL4) ve CD160 (BY55) reseptörlerine bağlanarak gösterir. CD85j (ILT-2) B hücreleri, NK ve T hücrelerinden, CD160 (BY55) endotelial, T ve NK hücrelerinden, CD85d (ILT-4) makrofajdan, CD158d (KIR2DL4) NK hücrelerinden salınır (119, 123, 124).

Chicago bölgesi ve Hollanda kökenli astımlı ailelerden yapılan HLA-G varyasyonu olan hastalarda; astım riskinin yüksek olduğu tespit edilmiştir. Atopik astımlı çocuklarda soluble (çözünebilir) HLA-G düzeyleri havayolu epitel hücrelerinde ve plazmada yüksek tespit edilmiştir (125, 126).

Son zamanlarda yapılan çalışmalar HLA-G'nin immün hücreleri düzenleyen ve böylece gebelik uterusundaki immün ayrıcalığı kuran bir unsur olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, solid tümörlerde, viral enfekte hücrelerde, transplante edilmiş organlarda, kutanöz inflamatuvar hastalıklarda ve Multiple Skleroz hastalarının serebral spinal sıvısında raporlanan HLA-G molekül ifadenmesinin her iki membran ve çözünebilir HLA-G antijenleri için doku dağılımının genişlemesi, HLA-G moleküllerinin genel

tolerojenik fonksiyonunu desteklemektedir. Astım kronik inflamatuvar bir akciğer hastalığıdır. Patogenezi, neden bazı hastalarda gelişip bazılarında gelişmediği tam olarak aydınlatılamamıştır. Th2 aktivite artmakta ve Th2 kökenli sitokinler bu hastalıkta önemli rol oynamaktadır. HLA-G molekülünün Th2 aktivitesine sebep olarak astım oluşmasında rol oynadığı düşünülmektedir (127).

Th2 aktivitesinin arttığı hastalıklar olan atopik hastalıklarla sHLA-G molekülü arasındaki bağlantıyı araştıran çalışmalar da vardır. Bu hastalıklardan allerjik rinitte ve atopik astımda plazma sHLA-G düzeyi yüksek bulunmuştur (128,129).

Başka bir çalışmada astımı olan hastalarda periferik kanda monositlerde defektif sHLA-G üretimi olduğu gösterilmiştir (130).

sHLA-G'nin astımlı hastaların plazmalarında olduğu gibi havayollarında da arttığı bilinmektedir. Bronko alveolar lavaj (BAL) yapılan astımlı hastalardan elde edilen örneklerde sHLA-G düzeylerinin yüksek olduğu gösterilmiştir (131).

Yapılan bir çalışmada allerjik riniti olan hastalarda allerjen spesifik immünoterapi tedavisi sonrası belirgin olarak serumda sHLA-G, sHLA-A,-B-C düzeylerinde düşme izlenmiştir (132).

İn vitro yapılan çalışmalarda yüksek HLA-G konsantrasyonları Th2 yolağını aktive ederken düşük HLA-G konsantrasyonla Th1 yolağını aktive etmektedir (133).

HLA-G ekspresyonu IL-10 ile regüle olmaktadır. Sağlıklı kontrollerde lipopolisakkarit stimülasyonu ile IL-10 ve sHLA-G1/HLA-G5 molekülünde yükselme gözlenmektedir

Fakat astımlı hastalarda IL-10 belirgin düşüktür ve sHLA-G1/HLA-G5 düzeyleri de in vitro ortamda düşük tespit edilmiştir (130).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmaya Mayıs 2013 - Mayıs 2015 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Allerji ve Astım Polikliniği'ne başvuran, yaşları 5-18 arasında değişen, ayaktan tedavi gören, daha önce GİNA'ya göre bronşial astım tanısı almış, astımı kontrol altında olan, ilacı kesilmiş 60 çocuk ve aynı yaş grubundan 20 sağlıklı çocuk alınmıştır.

Çalışmaya başlamadan önce Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi'nden etik kurul onayı (karar no:2012-357) alınmıştır. Çalışmaya katılacak ailelere çalışmanın amacı ve yapılacak işlemler anlatılarak sözlü ve yazılı onamları alınmıştır.

3.1. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

Daha önce GİNA'ya göre tanı almış atopik veya atopik olmayan astımlı hasta grubundan;

1. Başvurudan önceki son 1 ayda solunum yolu enfeksiyonu geçirmemiş olması
2. Başvurudan önceki son 1 ayda sistemik steroid kullanımları olmaması
3. 5-18 yaş grubunda olması

Sağlıklı kontrol grubu için;

1. Sağlıklı çocukların, sistemik muayenelerinin normal olması ve bilinen bir hastalığının olmaması

2. 5-18 yaş grubunda olması

3.2. Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri

1. Son 1 ay içinde üst/alt solunum yolu enfeksiyonu geçirmiş olmak
2. Son 1 ay içinde sistemik steroid kullanmış olmak
3. Başka bir sistemik hastalığı olmak

3.3. Hemogram Ölçümü

Hastalardan standart olarak hazırlanmış EDTA'lı tüpe 2 cc kan alınarak, merkez laboratuvarında tam kan sayım cihazında (Coultemax-M), tam kan sayımı yapıldı. Hastaların eozinofil yüzdesi ve mutlak eozinofil sayıları kayıt edildi.

3.4. Solunum Fonksiyon Testleri

Spirometrik değerlendirmeler Jaeger marka Masterscope Body solunum fonksiyon testi cihazı ile yapıldı. Spirometrik değerlendirmelerden 1. saniye zorlu ekspiryum volümü (FEV1 litre ve yüzde olarak), zorlu vital kapasite (FVC litre ve yüzde olarak), 1.saniye zorlu ekspiryum volümü/zorlu vital kapasite (FEV1/FVC), Zorlu ekspirasyon ile volümlerin % 25 ila %75'inin atıldığı periyottaki akım hızı (FEF25-75 litre ve yüzde olarak) değerleri çalışmada kullanıldı. Reversibilite testinde 200 mcg (2 puff) ölçülü doz salbutamol inhalasyonundan 15 dakika sonra FEV1'de ve/veya FVC'de bazal değere göre en az 200 ml'lik veya %12'lik artış veya FEF25-75 'de % 25 artış veya PEF değerinde % 15'lik artış pozitif kabul edildi.

3.5. Deri Testlerinin Uygulanması

Bu çalışmada tüm hastalara 15 antijenle epidermal deri testi yapıldı. Deri testlerinde pozitif kontrol olarak histamin, negatif kontrol olarak serum fizyolojik kullanıldı. Deri testleri uygulandıktan 15 dakika sonra değerlendirildi. Negatif kontrole göre 3 mm'den daha büyük ödem plağı pozitif olarak değerlendirildi. Deri testlerinden en az biri pozitif olan çocuklar atopik kabul edildi.

3.6. Yoğunlaştırılmış Nefes Havaının Elde Edilmesi ve Çalışılması

Hastaların yoğunlaştırılmış nefes havaları Çocuk Allerji ve Astım ünitesi laboratuvarında bulunan R-Tube cihazı ile toplandı. Hastalar 2 saat açlıktan sonra ağızlarını çalkalayıp 10 dakika boyunca ağızlarında küçük bir borucuk yardımı ile R-Tube cihazı içine nefes alıp verdiler. Toplanan yoğunlaştırılmış nefes havası -20C° sıcaklıkta saklandı. ELISA yöntemi ile sHLA-G düzeyleri ölçüldü.



Resim 1. RTUBE Cihazı



Resim 2. RTUBE Cihazı Kullanımı

Biovendor marka RD19470100R LOT NO:E14-115S4 numaralı ELİSA kiti ile 15.04.2015 tarihinde çalışıldı. Ölçüm limitleri 3.91, 7.81, 15.63, 31.25, 62.5, 125ü/ml'dir. Ölçüm içinde (intraassay) CV %4.9, ölçüm arasında (interassay) CV %6.5'tur.

Tablo 2. Elisa Kit İçeriği

Elisa Kit İçeriği	Kullanım	Miktar
Antikor kaplı mikrotitre strip	Kullanıma hazır	96 kuyucuk
Konjuge solüsyon (100x)	Konsantre	0.13ml
Master kalibratör	Yüksek vakum altında dondurulmuş	2 şişe
Konjuge dilüsyon tamponu	Kullanıma hazır	13 ml
Dilüsyon tamponu 1	Kullanıma hazır	20 ml
Dilüsyon tamponu 2	Kullanıma hazır	13 ml
Yıkama solüsyonu konsantresi (10x)	Konsantre	100 ml
Substrat solüsyonu	Kullanıma hazır	13 ml
Durdurma solüsyonu	Kullanıma hazır	13 ml

Tablo 3. Konjuge solüsyon hazırlanması

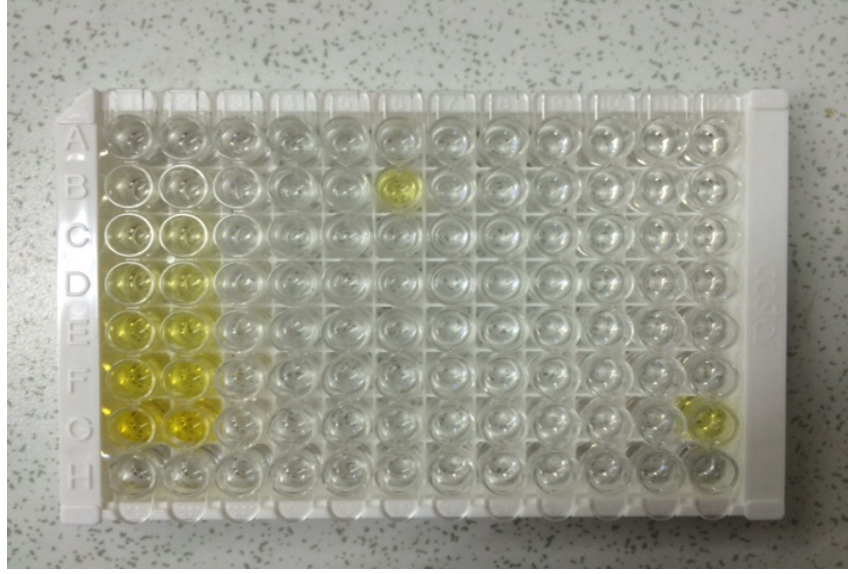
Kalibratör volümü	Dilüsyon tamponu	Konsantrasyon
Standart	-	625.000 Units/ml
100 µl standart	400	125.000 Units/ml
250 µl 125.00 ünite/ml	250	62.50 Units/ml
250 µl 62.5 ünite/ml	250	31.25 Units/ml
250 µl 31.25 ünite/ml	250	15.63 Units/ml
250 µl 15.63 ünite/ml	250	7.81 Units/ml
250 µl 7.81 ünite/ml	250	3.91 Units/ml

Master kalibratör şişenin içerisine 800µ distile su konularak 625U/ml ‘ye hazırlandı. Örnekler direkt alındığı şekilde dilüsyon yapılmadan kullanıldı. 100x konjuge solüsyondan bir kısım alınarak 99 konjüge dilüsyon tamponu ile 1x’e getirilmiştir. 10x yıkama solüsyonundan 100 ml alınarak 900 ml distile su işle 1x’e getirilmiştir.

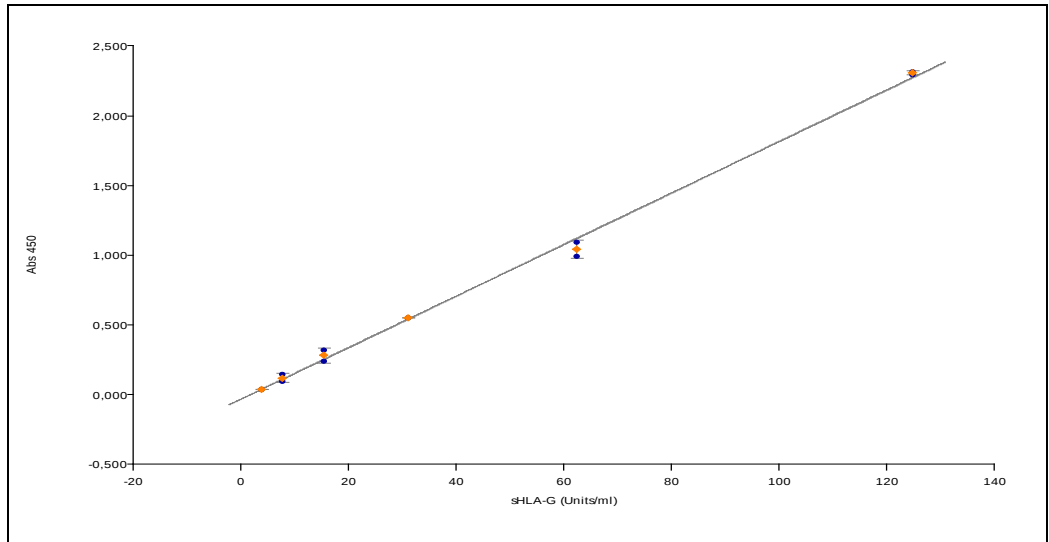
Ölçüm prosedürü;

1. Kalibratörler, örnekler, dilüsyon tamponu (kör için) 100 µlitre alınarak kuyucuklara eklendi.
2. Plaka 4°C’de 17 saat karıştırılmadan inkübe edildi.
3. İnkübasyondan sonra kuyucuklar 5 defa 350 µlitre ile yıkandı.
4. Her kuyucuğa 100 µlitre konjuge solüsyon konuldu.
5. Plaka oda sıcaklığında 1 saat çalkalanarak inkübe edildi.

6. Kuyucuklar 5 defa 350 µlitre ile yıkandı.
7. Her kuyucuğa 100 µlitre substrat solüsyonu eklendi.
8. 25 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi. Bu sırada ışıktan korundu.
9. Renk gelişimi; durdurma solüsyonu konularak durduruldu.
10. Absorbans 450 nm’de okundu.



Resim 3. Hazırlanan plaka örneği



Grafik 1. sHLA-G standart grafisi

$R^2=0.998$ (regresyon)

4. BULGULAR

Çalışmamız Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Allerji Polikliniği' ne başvuran; 44'ü atopik olmayan astım hastası, 18'i atopik astım hastası ve 18'i de hiçbir yakınması olmayan 5-18 yaş grubu 80 çocuk değerlendirmeye alınmıştır.

Tablo 4. Çalışmaya alınan hastaların özellikleri

	Atopik Astım n=18	Atopik Olmayan Astım n=44	Kontrol n=18	p
Yaş (Yıl) *	11 (5-18)	9 (4-17)	9,5(5-17)	>0.05 [†]
Cinsiyet				
Erkek n (%)	14 (77,8)	31 (70,5)	9 (50)	>0.05 [‡]
Kız n (%)	4 (22,2)	13 (29,5)	9 (50)	
Atopi %	29	71	0	0.001 [‡]
Eozinofil % *	3,1(8-13)	2,7 (0,6-9,3)	1.9 (0,6-3)	<0,05 [†]
Eozinofil sayısı/mm ³ *	240 (70-1020)	230 (30-720)	100 (100-200)	>0,05 [†]
FEV ₁ % *	109,5 (87-129)	107 (101-137)	116 (83-137)	>0.05 [†]
FEV ₁ (litre) *	2.3 (1-4,6)	1,9 (0,79-4,2)	2 (1-6,4)	>0.05 [†]
FVC % *	107 (81-154)	103 (62-144)	102 (72-125)	>0,05 [†]
FVC litre *	2,5 (1,2-5,4)	1,9 (0,78-5,8)	2 (1,1-7,3)	>0,05 [†]
FEF 25-75 %*	105 (49-141)	98 (55-183)	123 (81-147)	>0.05 [†]
FEF 25-75litre	2.6 (1,2-4,8)	2.2 (0,9-5,1)	2,8 (1,2-6,4)	>0.05 [†]

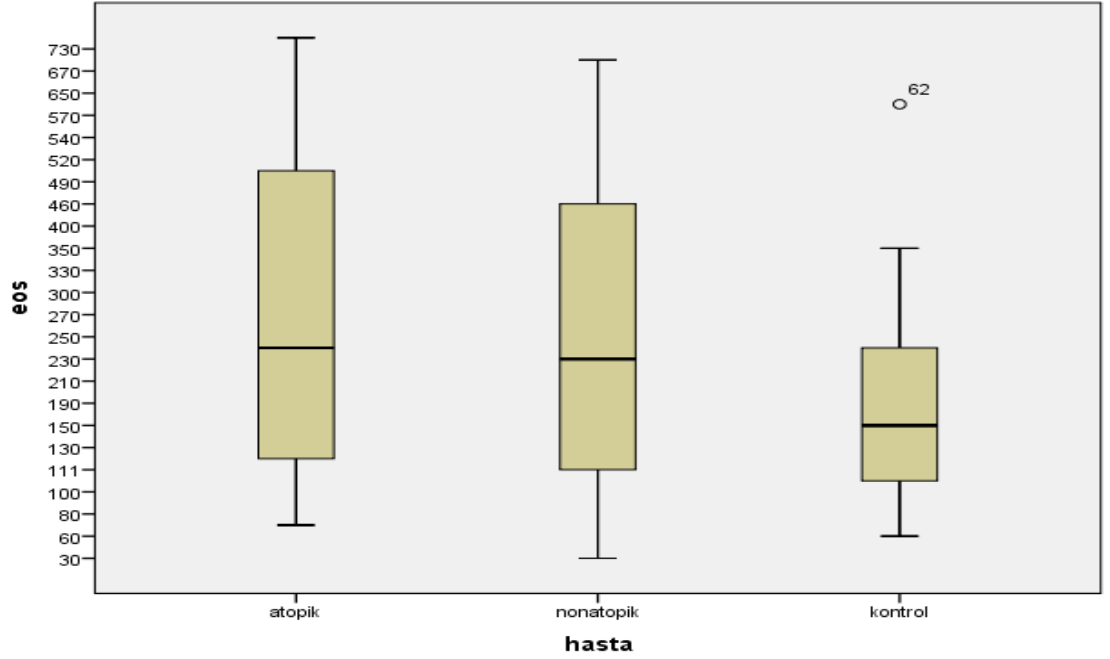
* Ortanca (çeyrekler arası aralık)

† Kruskal Wallis

‡ Ki-kare

4.1. Eozinofil Sayıları

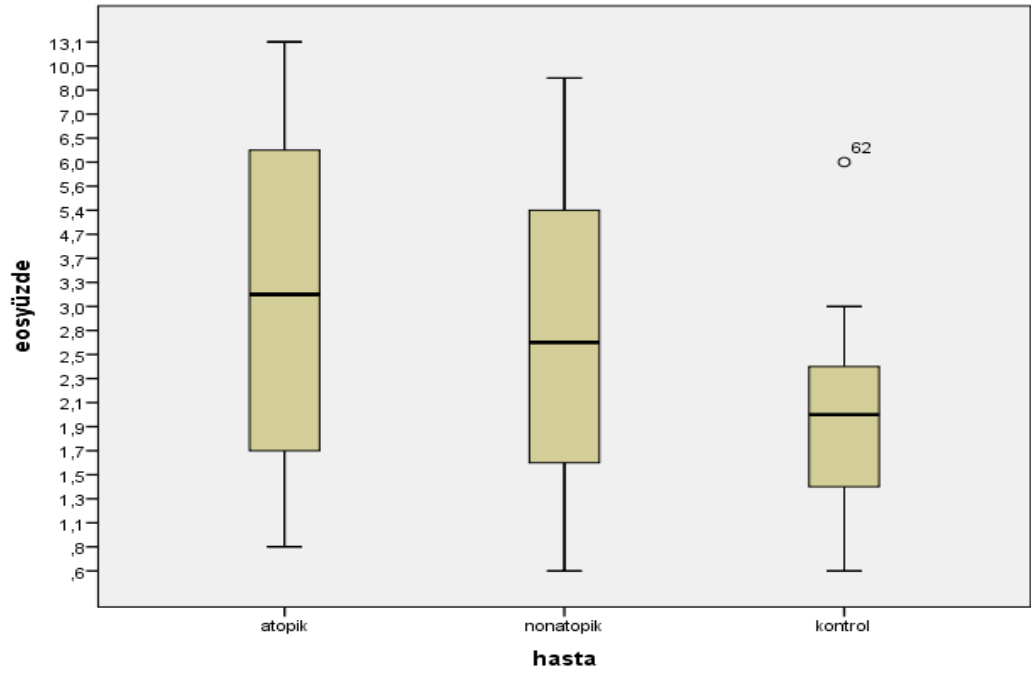
Atopik, atopik olmayan ve kontrol gruplarındaki eozinofil sayılarını Kruskal Wallis testi ile karşılaştırdık. Gruplar arasında eozinofil sayıları açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.11$, Kruskal Wallis).



Şekil 3. Gruplara göre Eozinofil sayıları dağılımı

4.2. Eozinofil yüzdeleri

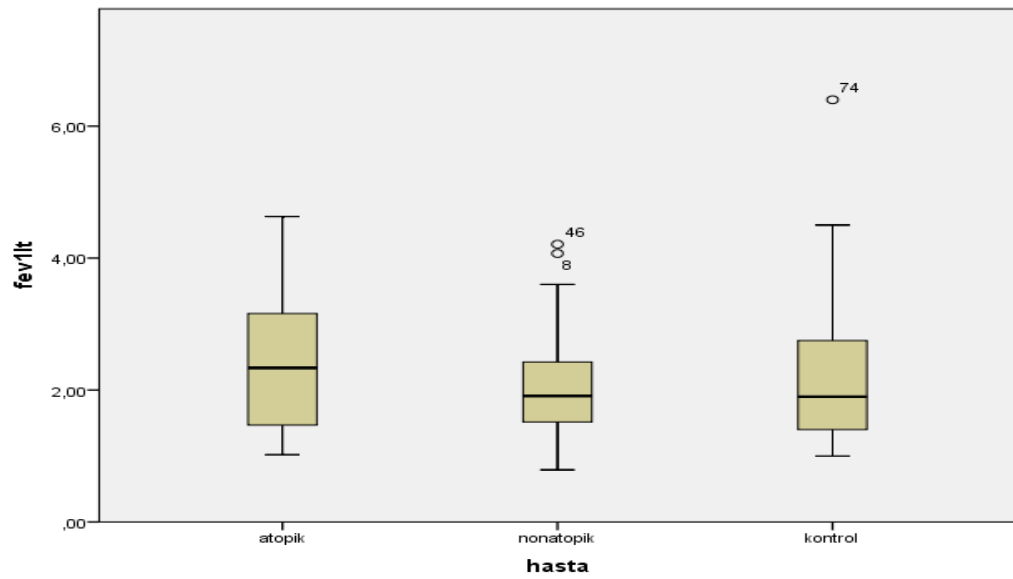
Atopik, atopik olmayan ve kontrol gruplarındaki Eozinofil yüzdelerini Kruskal Wallis testi ile karşılaştırdık. Gruplar arasında eozinofil yüzdeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.28$, Kruskal Wallis). İkili grup karşılaştırmalarında atopik ve atopik olmayan astım arasında fark yokken, hem atopik hem de atopik olmayan astım ile kontroller arasında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı ($p<0,05$, Mann Whitney U Test).



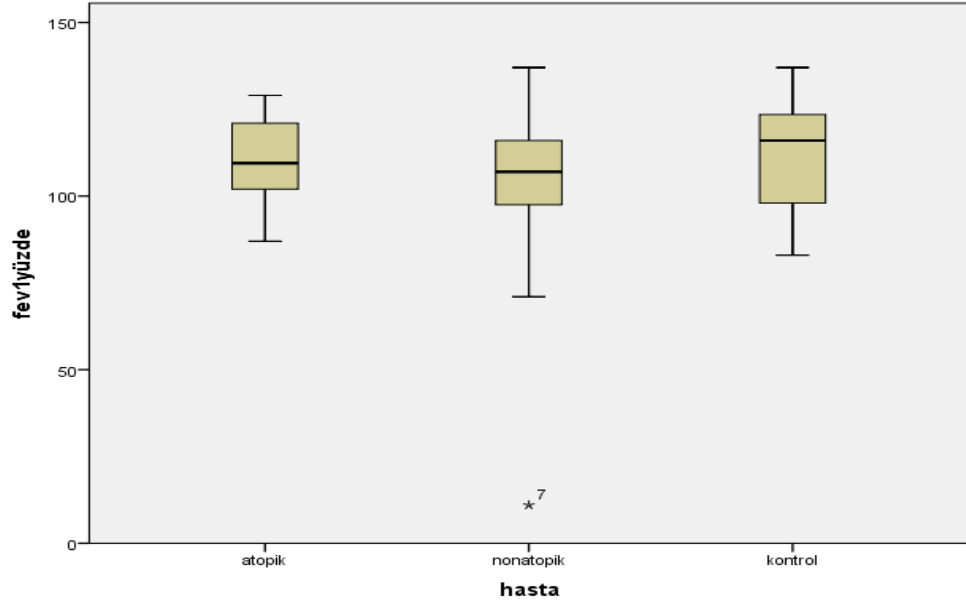
Şekil 4. Gruplara göre eozinofil yüzdelерinin dağılımı

4.3. FEV1 yüzde ve FEV1 litre

Atopik, atopik olmayan ve kontrol gruplarındaki FEV1 yüzde ve FEV1 litre değerlerini Kruskal Wallis testi ile karşılaştırdık, gruplar arasında FEV1 yüzde ve FEV1 litre açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.31$ ve $p=0.78$, Kruskal Wallis).



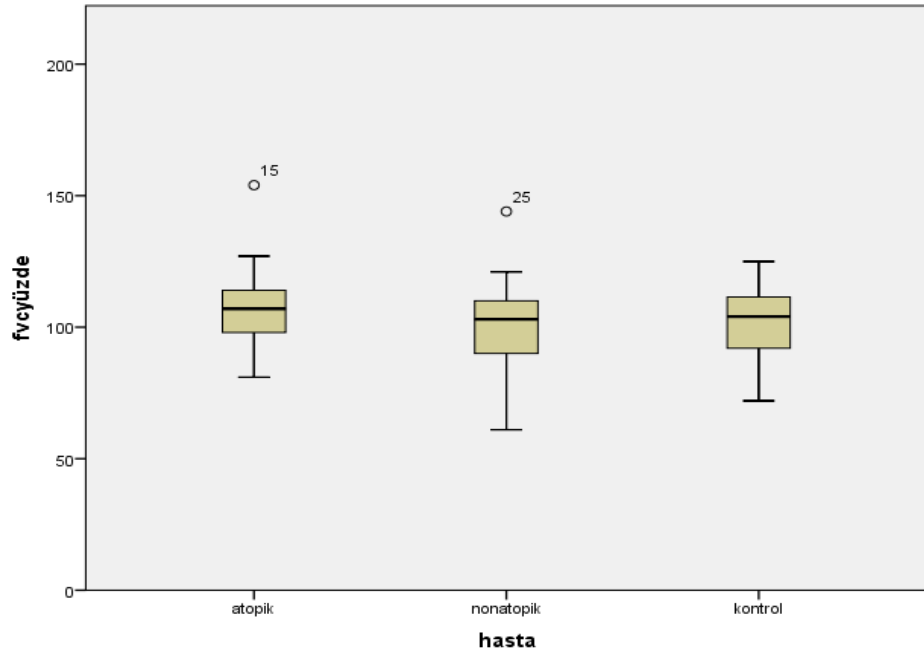
Şekil 5. Gruplara göre FEV1 litre dağılımı



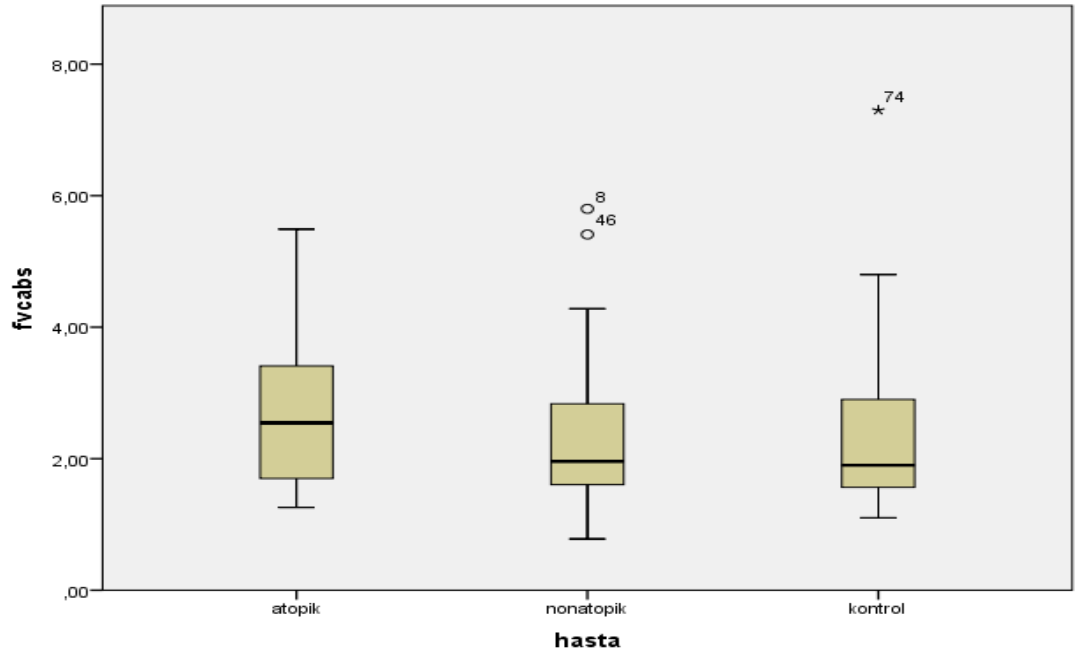
Şekil 6. Gruplara göre FEV1 yüzdeleri dağılımı

4.4.FVC yüzde, FVC abs

Atopik, atopik olmayan ve kontrol gruplarındaki FVC yüzde ve FVC abs değerlerini Kruskal Wallis testi ile karşılaştırdık, gruplar arasında FVC yüzde ve FVC abs değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla $p=0.60$ ve $p=0.40$, Kruskal Wallis).



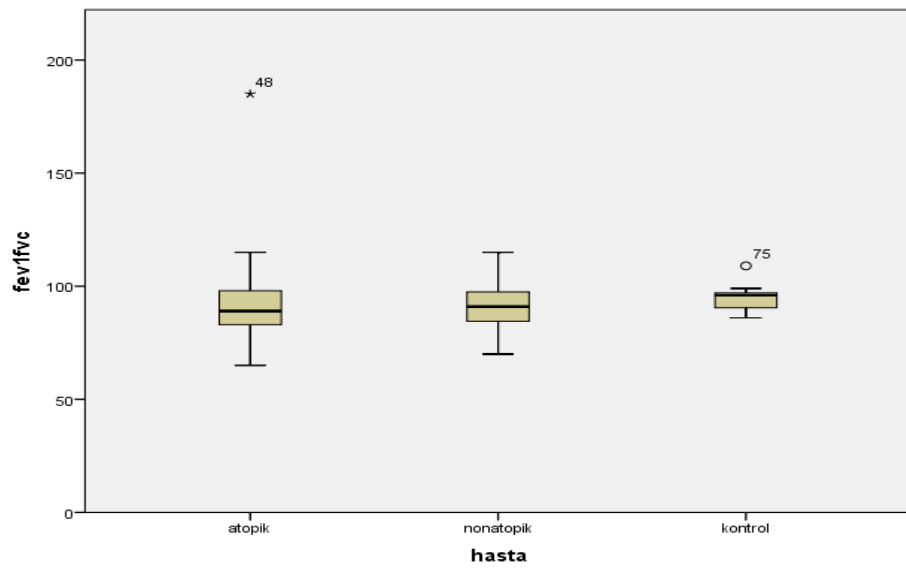
Şekil 7. Gruplara göre FVC yüzdeleri dağılımı



Şekil 8. Gruplara göre FVC abs. litreye göre dağılımı

4.5.FEV1/FVC

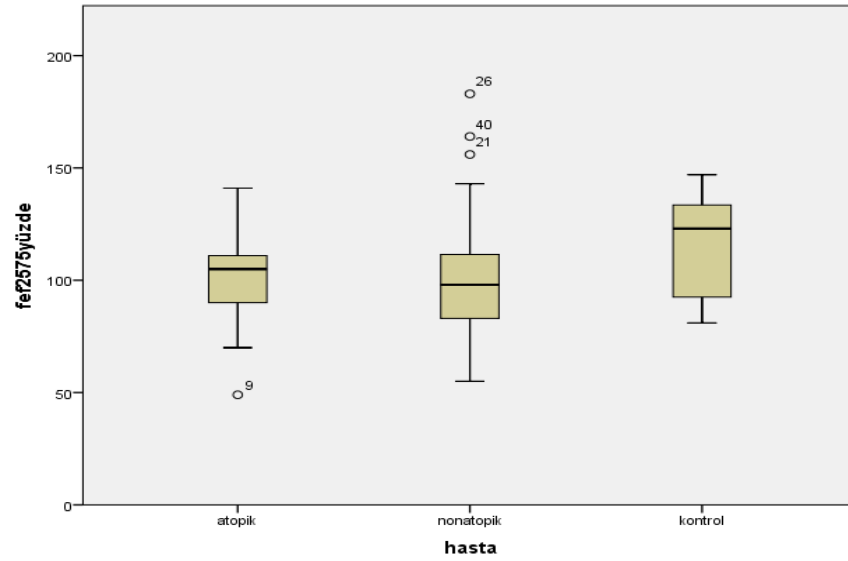
Atopik, atopik olmayan ve kontrol gruplarındaki FEV1/FVC değerlerini Kruskal Wallis testi ile karşılaştırdık. Gruplar arasında FEV1/FVC değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0.21$ Kruskal Wallis).



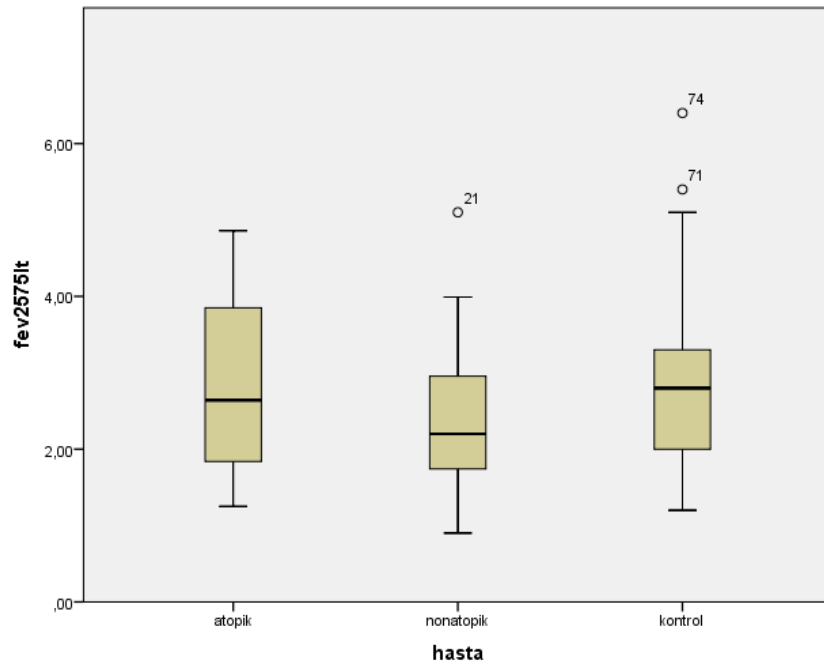
Şekil 9. Gruplara göre FEV1/FVC yüzdesinin dağılımı

4.6.FEF 25 75 yüzde, FEF 25 75 litre

Atopik, atopik olmayan ve kontrol gruplarındaki FEF 25 75 yüzde ve FEF 25 75 litre değerlerini Kruskal Wallis testi ile karşılaştırdık. Gruplar arasında FEF 25 75 yüzde ve FEF 25 75 litre değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (sırasıyla $p=0.07$, $p= 0.23$ Kruskal Wallis).



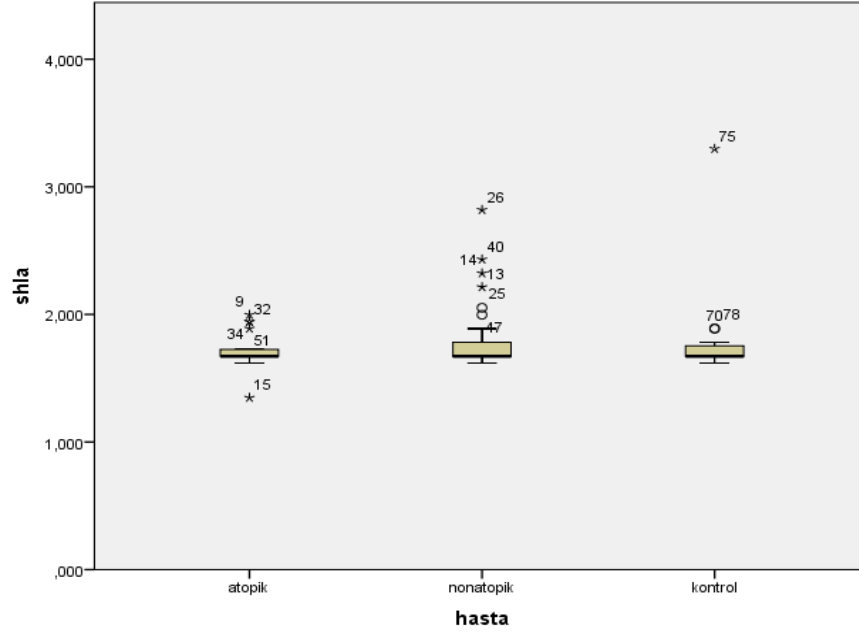
Şekil 10. Gruplara göre FEF 25 75 yüzdesinin dağılımı



Şekil 11. Gruplara göre FEF 25 75 litresinin dağılımı

4.7. sHLA-G

Atopik, atopik olmayan ve kontrol gruplarındaki nefes havasındaki HLA-G değerlerini Kruskal Wallis testi ile karşılaştırdık. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. (p=0.23, Kruskal Wallis).



Şekil 12. Gruplara göre sHLA-G dağılımı

Tablo 5. Atopik ve atopik olmayan astım hastalarının karşılaştırılması

Parametreler	ATOPIK*	NONATOPIK*	P değeri
Solubl HLA-G	1,67 (1,34-1,99)	1,67 (1,61-21,8)	0,792†
Eozinofil Sayısı (m ³)	240 (70-1020)	230 (30-720)	0,698†
Eozinofil (%)	3,10 (8-13,1)	2,75 (6-9,3)	0,360†
FEV ₁ (%)	109 (87-129)	107 (11-137)	0,452†
FVC (%)	107 (81-154)	103,5 (61-144)	0,466†
FVC abs lt	2,545(1,26-5,49)	1,94 (0,78-5,80)	0,317†
FEV ₁ / FVC (%)	89 (65-185)	91 (70-115)	0,212†
FEF ₂₅₋₇₅ (%)	105 (49-141)	98 (55-183)	0,698†
FEF ₂₅₋₇₅ lt	2,64 (1,25-4,86)	2,23 (0,90-5,10)	0,614†

* Ortanca (Çeyrekler arası aralık)

† Mann Whitney U test

Atopik ve atopik olmayan astımlı grupları Mann Whitney U testi ile karşılaştırdık. Atopik ve atopik olmayan astım hastalarında sHLA-G, eozinofil sayısı, eozinofil yüzdesi, FEV₁ yüzdesi, FVC yüzdesi, FVC abs litre, FEV₁ / FVC, FEF₂₅₋₇₅ litre ve FEF₂₅₋₇₅ yüzdesi parametrelerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamadı.

Tablo 6. Atopik astım hastalarının ve kontrol grubunun karşılaştırılması

ÖZELLİKLER	ATOPIK*	KONTROL*	P değeri
Solubl HLA-G	1,67 (1,34-1,99)	1,69 (1,61-25,78)	0,509†
Eozinofil Sayısı(m ³)	240 (70-1020)	145 (60-350)	0,062†
Eozinofil (%)	3,10 (8-13,1)	1,95 (0,6-3)	0,015†
FEV ₁ (%)	109 (87-129)	116,5 (83-137)	0,506†
FVC (%)	107 (81-154)	102 (72-125)	0,669†
FVC abs lt	2,545 (1,26-5,49)	2 (1,10-7,30)	0,646†
FEV ₁ / FVC (%)	89 (65-185)	96 (86-109)	0,334†
FEF ₂₅₋₇₅ (%)	105 (49-141)	123 (81-147)	0,093†
FEF ₂₅₋₇₅ lt	2,64 (1,25-4,86)	2,80 (1,2-6,4)	0,060†

* Ortanca (Çeyrekler arası aralık) † Mann Whitney U test

Atopik astımlı grubu ve kontrol grubunu Mann Whitney U testi ile karşılaştırdık. Atopik astımlı hasta ve kontrol grubunda solubl HLA-G, eozinofil sayısı, FEV₁ yüzdesi, FVC yüzdesi, FVC abs, FEV₁ / FVC, FEF₂₅₋₇₅ litre ve FEF₂₅₋₇₅ yüzdesi parametrelerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır. Ancak eozinofil yüzdesi değerlendirildiğinde iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmuştur (p= 0,015).

Tablo 7. Atopik olmayan astım hastalarının ve kontrol grubunun karşılaştırılması

ÖZELLİKLER	NONATOPIK*	KONTROL *	P değeri
Solubl HLA-G	1,67 (1,61-21,8)	1,69 (1,61-25,78)	0,616†
Eozinofil Sayısı(m ³)	230 (30-720)	145 (60-350)	0,069†
Eozinofil (%)	2,75 (6-9,3)	1,95 (0,6-3)	0,026†
FEV ₁ (%)	107 (11-137)	116,5 (83-137)	0,145†
FVC (%)	103,5 (61-144)	102 (72-125)	0,698†
FVC abs lt	1,94 (0,78-5,80)	2 (1,10-7,30)	0,698†
FEV ₁ / FVC (%)	91 (70-115)	96 (86-109)	0,969†
FEF ₂₅₋₇₅ (%)	98 (55-183)	123 (81-147)	0,140†
FEF ₂₅₋₇₅ lt	2,23 (0,90-5,10)	2,80 (1,2-6,4)	0,038†

* Ortanca (Çeyrekler arası aralık) † Mann Whitney U test

Atopik olmayan astımlı grubu ve kontrol grubunu Mann Whitney U testi ile karşılaştırdık. Atopik olmayan astım ve kontrol grubunda solubl HLA-G, eozinofil sayısı, FEV₁ yüzdesi, FVC yüzdesi, FVC abs, FEV₁/FVC, FEF₂₅₋₇₅ yüzdesi parametrelerinde istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır. Ancak Eozinofil yüzdesi ve FEF₂₅₋₇₅ litresi değerlendirildiğinde iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark bulunmuştur (sırasıyla p=0,026 ve p= 0,038, Mann Whitney U).

4.8 Korelasyon Analizleri

Nefes havası sHLA-G düzeyleri atopik astımlılarda kan eozinofil sayıları ile korelasyon göstermezken FEV1 litre ve FEF 25-75 litre değerleri ile ters korelasyon gösteriyordu (p=0,034, r=-0,503 ve p=0,006, r=-0,624, sırasıyla spearman).

Atopik olmayanlar ve sağlıklı çocuklarda nefes havası sHLA-G düzeyleri kan eozinofil sayıları ya da solunum fonksiyon test parametreleri ile herhangi bir korelasyon göstermiyordu (p>0,05, spearman)

5.TARTIŞMA

Astım solunum yollarının kronik inflamatuvar bir hastalığıdır. Astım tanısı, takibi, tedavi monitorizasyonunda, geleneksel yöntemlerin çoğu invaziv, zor, zaman alıcı ve maliyeti yüksek olan yöntemlerdir. Bundan dolayı daha basit, hızlı, kolay uygulanabilir, tekrarlanabilir noninvaziv yöntemler geliştirilmiştir. Yoğunlaştırılmış nefes havası dışarıya verilen nefes havasının soğutulup yoğunlaştırılarak toplanmasıdır. Yoğunlaştırılmış nefes havası toplanması hava yolu fonksiyonu veya inflamasyonunu değiştirmez ve küçük çocuklarda bile kolayca uygulanabilir (108, 109).

Doğumda Th2 tip immünite baskındır. Doğumdan sonra karşılaşılan değişik uyarılar Th1 aktivitesinin artmasına neden olur. Bu dönemde Th1 de ortaya çıkabilecek bir gecikme ya da hata Th2 tip immünitenin baskın olmasına neden olur. Bu çocuklarda azalmış IFN- γ üretimi tespit edilir ve ileriki yaşamlarında atopiye meyil gösterirler (135, 138,139).

HLA-G molekülü ise Th2 aktivitesine sebep olan bir molekül olduğundan allerjik hastalıklarda rol oynayabileceği düşünülmüş ve pek çok çalışma yapılmıştır. Astım, atopi, nazal polipi olan hastalarda, sHLA-G düzeyleri kanda, plazmada, bronkoalveolar lavajda ve serumda yüksek olarak bulunmuş, ancak bazı çalışmalarda tam ters sonuçlar da alınmıştır. (128,164,165)

Daha önce sHLA-G düzeylerinin nefes havasında çalışılmamış olduğu görülmektedir. Çalışmamızda astım patogenezinde hala rolü tartışmalı olan sHLA-G'nin nefes havası düzeyleri, yoğunlaştırılmış nefes havasının, noninvaziv ve uygulanması klinik pratikte daha kolay bir yöntem olması nedeni ile seçilmiştir. Astımlı 62 çocuk ve sağlıklı 18

çocuk çalışmaya dahil edilerek nefes havası örnekleri toplanmış ve nefes havası sHLA-G belirlenmiştir. Ancak astımı çocuklar ve sağlıklı çocuklar arasında nefes havası sHLA-G düzeylerinde istatistiksel olarak bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$).

HLA-G ekspresyonu IL-10 ile regüle olmaktadır. Sağlıklı kontrollerde lipopolisakkarit stimülasyonu ile IL-10 ve sHLA-G1/HLA-G5 moleküllerinde yükselme gözlenmektedir. Fakat astımlı hastalarda IL-10 belirgin düşüktür ve sHLA-G1/HLA-G5 düzeyleri de in vitro ortamda düşük tespit edilmiştir. Bununla birlikte IL-10; gebelikte, dendritik hücre olgunlaşmasında ve antijen-spesifik duyarlık oluşmasında Th2 yolağında önemli rol oynamaktadır (130).

Kapasi K ve ark yaptığı in vitro yapılan çalışmalarda yüksek HLA-G konsantrasyonları Th2 yolağını aktive ederken düşük HLA-G konsantrasyonları Th1 yolağını aktive etmektedir. $HLA-G \geq 0.10 \text{ ug / ml}$ olması Th2 yolağını aktive ederek alloimmüniteyi baskılar. IL-10'da yükselme, TNF- α ve IFN- γ 'da düşüş ile uyarım yapmaktadır (133).

Daha önce Tahan ve ark.(128) yaptığı, 53 astım hastası ve 16 sağlıklı kontrol grubu içeren çalışmada, astımı olan grupla, kontrol grubu arasında anlamlı fark saptanmazken, atopik astımı olan çocuklarda kontrol grubuna göre daha yüksek sHLA-G düzeyleri izlenmişti. Bu çalışma sHLA-G'nin atopik astımda rol oynayabileceğini düşündürmüştü. Yine bu çalışma atopik astımlı çocuklarda yüksek sHLA-G düzeylerinin izlendiği ilk çalışmaydı ve atopik olmayan astımlı hastalarda normal sHLA-G düzeyleri olduğunu bildirmişti. Ciprandi ve ark. (164) ise benzer sonuçlar elde etmekle birlikte allerjik rinit ve allerjik astımı olan çocuklar karşılaştırıldığında anlamlı fark saptayamamıştı. Bunun nedeni ise sHLA-G ve allerjen spesifik IgE ilişkisine bağlı olabileceğiydi. Yine aynı zamanda polen allerjisi olan allerjik rinitli hastalarda polen mevsiminde yüksek sHLA-G düzeyleri izlenmişti. sHLA-G'nin mevsimsel değişimlerden etkilenebildiği gösterilmişti. Ciprandi ve ark. sHLA-G allerjik olmayan solunum yolu semptomları olduğunda da farklı sonuçlar verdiğini belirtmişti.

Yine diğer çalışmalara bakıldığında; Rizzo R ve ark. (130) ise yaptığı bir çalışmada astımı olan hastalarda periferik kanda monositlerde defektif sHLA-G üretimi olduğu göstermişti. sHLA-G'nin astımlı hastaların plazmalarında olduğu gibi havayollarında da arttığı bilinmektedir. White SR ve ark. yaptığı çalışmada 12 sağlıklı kontrol ve 15 astım hastası çalışılmıştı. Bronko alveolar lavaj (BAL) yapılan astımlı hastalardan elde edilen

örneklerde sHLA-G düzeylerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu gösterilmişti (131). Benzer şekilde Chicago bölgesi, Hollanda kökenli astımlı ailelerden yapılan HLA-G varyasyonu olan hastalarda; astım riskinin yüksek olduğu tespit edilmişti. Atopik astımlı çocuklarda soluble (çözünabilir) HLA-G düzeyleri havayolu epitel hücrelerinde ve plazmada yüksek tespit edilmişti (125,126).

Ciprandi G ve ark. yaptığı çalışmada 120 semptomatik hasta çalışmaya alınmış. Bu hastaların 45'i non-alerjik, 75'i alerjik hasta iken 44 hasta da kontrol grubuna dahil edilmiş. İmmünoenzimatik metodlarla serum sHLA-G düzeylerine bakılmış, atopik hasta grubunda kontrol ve atopik olmayan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek sHLA-G değerleri izlenmiş. Bu çalışmada da alerjik durumlarda daha yüksek sHLA-G düzeyleri olduğu gösterilmişti (164). Cosmi L ve ark. (132) yaptığı bir çalışmada ise alerjik riniti olan hastalarda alerjik spesifik immünoterapi tedavisi sonrası belirgin olarak serumda sHLA-G düzeylerinde düşme izlenmişti (132). Bu çalışmalar bize sHLA-G düzeylerinin atopi ve astıma gidişte yol gösterici olabileceğini düşündürdü. Çalışmamıza alınan 80 hastadan nefes havası toplanmıştı aynı zamanda hastaların atopisine, eozinofil sayısına, eozinofil yüzdesine bakılmış ve hastaların solunum fonksiyon testleri yapılmıştı. Çalışmamızda 3 grup oluşturularak; atopik, kontrol ve atopik olmayan astımlı hasta grupları kendi aralarında ve ikili gruplar şeklinde karşılaştırıldı. Bu gruplar arasında sHLA-G düzeyleri arasında anlamlı fark saptanamadı. Saptanamamasının nedenleri; alınan hasta popülasyonuna, alınan hasta sayısının yetersiz olmasına, nefes havasının yeteri kadar efektif toplanamamasına ve sHLA-G düzeylerinin mevsimsel değişimlerden etkilenebilmesi gibi sebeplere bağlı olabilir.

sHLA-G aynı zamanda non-alerjik hava yolunda da yükselebilmektedir. Literatürde Avelino ve ark. nazal (165) polipi olan hastalarda yaptığı çalışmada; atopik grupta sHLA-G düzeyleri daha düşük izlemişti yine aynı zamanda HLA-G pozitif hastalarda daha düşük eozinofil yüzdeleri tespit edilmişti. Bu sonuçlar literatürdeki çalışmalar ile ters yöndeydi, bu sonuçlar hastalıkların patofizyolojilerinin farklı olması, sHLA-G'nin çeşitli inflamatuvar ve otoimmün durumlardan da etkilenmesi ile ilgili olabileceğine bağlanmıştı.

Erkek cinsiyet çocukluk dönemi astımı için önemli bir risk faktörüdür. On dört yaşından önceki dönemde astım prevalansı erkek çocuklarında kız çocuklarının yaklaşık 2 misli olarak bulunmuştur. Çocukluk çağında astımlı hastaların çoğu erkek çocuklardır. Yapılan araştırmalarda, 10 yaş ve altındaki çocuklarda astım ve alerjik rinitin erkeklerde kızlara göre daha sık görüldüğü, ancak 10 yaş üzerindeki çocuklarda erkek/ kız oranının eşitlendiği görülmüştür (141). Yine aynı şekilde ISAAC çalışma grubunun yaptığı çalışmada ise 6-7 yaş grubunda astım prevalansı erkeklerde daha fazla saptanırken 13-14 yaş grubunda cinsiyete göre astım prevalansının ülkeler arasında oldukça değişken bir dağılım gösterdiği ortalama olarak kızlarda hafifçe daha yüksek olduğu bildirilmiştir (163).

Bizim çalışmamızda ise hastaların 26 tanesi (%32.5) kız, 54 tanesi (%67.5) erkek hastaydı; tüm gruplar için ayrı ayrı baktığımızda ise atopik astımlı hasta grubunun 4 tanesi (%22.2) kız, 14 tanesi (%77.8) erkek, atopik olmayan astımlı hasta grubunda 13 tanesi (%29.5) kız, 31 tanesi (%70.5) erkek, sağlıklı kontrol grubunda 9 tanesi (%50) kız, 9 tanesi (%50) erkekti. Atopik ve atopik olmayan astımlı hasta grubumuz yaklaşık olarak literatürle uyumlu gelmişti.

Cocukluk çağında atopi ve çevresel alerjenler arasında güçlü bir ilişki bulunmaktadır (142). Dünyada ve ülkemizde bronşiyal astımlı çocuklarda allerjen duyarlılığını araştıran birçok çalışma bulunmaktadır. Yurt dışında yapılan çalışmalarda ise bu oranın % 28-83 arasında bulunduğu bildirilmiştir (143,144). Yurt içinde yapılmış çeşitli çalışmalarda bronşiyal astımlı çocuklarda en az bir allerjene karşı duyarlılık oranının % 42-61 arasında değiştiği bildirilmiştir (145,146). Pearce ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarda ise astım hastalarının %50'sinden daha azında atopi bulunmuştur (147,148).

Saraçlar ve ark. Ankara genelinde yaptığı çalışmada atopi %20,6 olup, en sık görülen alerjenler polen, ev tozu akarı ve hamamböceği'dir (162). Gürkan F. ve arkadaşlarının Diyarbakır'da yaptığı bir başka çalışmada 140 astımlı hastada ailede atopi öyküsü % 66 olarak bulunmuştur (149).

Literatürde hem çocuk hem de erişkin bronşiyal astımlı hastalarda allerjen duyarlılığını araştıran birçok çalışma mevcuttur. Bu çalışmaların büyük bir kısmında bronşiyal astımlı hastalarda en sık duyarlılık saptanan alerjenlerin ev tozu akarları olduğu

bildirilmektedir. Bizim çalışmamızda 80 hastanın 18'i atopik astım ile takip edilmekteydi. En sık duyarlılık polenler (%44), ikinci sıklıkta akarlar (%22) , üçüncü sıklıkta ise küf mantarına (%16) karşıydı.

Çalışmamızda atopi ve sHLA-G ilişkisi göstermek istediğimiz hedeflerden biriydi. Daha önceki birçok çalışmada atopik hastalarda ve atopik astımı olan hastalarda sHLA-G düzeylerinin daha yüksek izlendiği görülmüştü. Ancak bazı çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmişti. Bunun nedeni olarak da çok geniş çaplı çalışmaların olmaması ve inflamatuvar durumların da sHLA-G düzeylerinin negatif etkilenmiş olabilmesiydi. Bir çalışmada nazal polip olan atopik astım hastalarında daha düşük sHLA-G izlenirken (165), diğer çalışma ise alerjik rinitli hastalarda yapılmış ve atopik hastalarda daha yüksek sHLA-G izlenmişti (164), yine başka bir çalışmada atopik astım hastalarında (128) serumda daha yüksek sHLA-G düzeyleri izlenmişti. Bu farklılıklar sHLA-G'nin düzeyinin başka faktörlerden de etkilenebildiğini göstermişti. Çalışmamızda sHLA-G atopi ilişkisi literatürdeki veriler ile uyumlu gelmedi.

Çocuklarda akciğer hastalıklarının değerlendirilmesinde akciğer fonksiyon testlerinin önemi giderek artmaktadır. Bu testler akciğer fonksiyon bozukluğunu saptamak ve şiddetini değerlendirmekte, hastalığın ilerleyişini ve tedaviye yanıtı ölçmede faydalıdır (150). Solunum fonksiyonlarının ölçümü, özellikle de solunum fonksiyon bozukluklarının reversibilitesi, hava akımındaki azalmanın direkt olarak değerlendirilmesini; solunum fonksiyonlarındaki değişkenliğin ölçümü ise havayolu aşırı duyarlılığının indirekt olarak değerlendirilmesini sağlar. Hava akımındaki azalmanın, reversibilitenin ve değişkenliğin ölçümü, astımın tanısını doğru koymada kritik öneme sahiptirler (151,152). Havayolunun obstrüksiyonunu gösteren temel değişken ilk bir saniyede zorlu vital kapasiteden atılabilen hava yüzdesi FEV1/FVC'dir. Obstrüksiyon tanısı konulduktan sonra, şiddetini belirlemede beklenen değere göre % FEV1 kullanılır (153). PEF'in büyük bronşlar, FEV1'in büyük ve orta çaplı bronşlar, FEF25-75'in de orta ve küçük çaplı bronşlar hakkında fikir verdiği kabul edilmektedir. Astımlı hastanın ilk başvurusunda mutlaka spirometrik tetkik yapıp obstrüksiyon düzeyi saptanmalıdır (154).

Literatüre bakıldığında sHLA-G düzeyleri ve solunum fonksiyon testi arasındaki ilişkiyi gösteren çalışma yapılmamıştı. Çalışmamızda sHLA-G düzeyi yüksekliğinin

reverzibiliteye, küçük hava yollarına ve büyük hava yollarına etkisini göstermeyi amaçlamıştık. Çalışmamızda sHLA-G düzeyleri ve solunum fonksiyon testinde reverzibilite veya hava yollarının etkilenmesi açısından anlamlı fark izlenmedi. Bu seçilen hasta popülasyonunun homojen olmayan yaş dağılımı, hasta popülasyonun geniş olmaması ve yine çalışmamızda atopik astım ve atopik olmayan astımlı hasta grubu arasında solunum fonksiyon testinde anlamlı fark bulunmaması ile açıklanabilir. Çalışmamızda atopik, atopik olmayan ve kontrol grubu karşılaştırıldığında FEV₁ yüzdesi, FVC yüzdesi, FVC abs litre, FEV₁ / FVC yüzdesi, FEF₂₅₋₇₅ litre ve FEF₂₅₋₇₅ yüzdesi parametrelerinde anlamlı fark saptanmadı. Ancak atopik olmayan astımı olan hasta grubu ve kontrol grubu karşılaştırıldığında FEF₂₅₋₇₅ yüzdesi açısından anlamlı fark bulunmuştur.

Astım sürecinde eozinofiller önemli roller üstlenmektedirler (155). Bizim çalışmamızda atopik astımlı grup ve kontrol grubu karşılaştırıldığında anlamlı olacak şekilde daha yüksek eozinofil düzeyleri izlendi. Astımlı hastaların havayollarında eozinofillerin sayısı artmaktadır ve eozinofillerden salgılanan proteinler havayolu epitel hücrelerine zarar vermektedir. Bu hücrelerin hava yolunun yeniden şekillendirilmesinde de rolleri olduğu düşünülmektedir (85).

Literatüre baktığımızda astım, atopi, eozinofil ilişkisini gösteren çok sayıda çalışma vardı. Liu ve arkadaşları (156) 16 sağlıklı ve 16 astım hastası fareden aldıkları BAL örneklerinde eozinofil sayısı ve eozinofil yüzde değerleriyle astım arasında istatistiksel açıdan anlamlı ilişki bulunduğunu bildirmişlerdir. Martinez ve ark.'ları eozinofil yüzde değerinin %4 in üzerinde olması çocuklarda gelecekteki artmış astım riskinin bir göstergesi olabileceğini bildirmiştir (157). Bousquet J ve ark. eozinofil sayıları yüksek olan hastalarda astımın daha şiddetli ataklarla ilerleyebileceğini belirtmiştir (158). Louis ve ark. yaptığı çalışmada yine balgamda eozinofil sayısı yüksek olan astım hastalarında astım şiddetinin daha yüksek olduğunu göstermiştir (159). Berry ve ark. hafif ve şiddetli astımı olan hastaların balgam örneklerini incelemiş ve hafif derecede astımı olan hastaların bazal membranlarının daha ince olduğu ve ilerleyen dönemlerde steroide daha iyi yanıt verdiğini tespit etmiştir (160). John V. Fahy ve ark. yine 200 astım hastasında çalışma yapmış, eozinofil yüzdesi %6 ve üzeri olan hastalarda solunum yolu obstruksiyon bulgularının daha şiddetli olduğunu ve metakoline yanıtın daha reaktif olduğunu bildirmiştir (161).

Literatürde olan bu çalışmaların ışığında sHLA-G düzeyi ile eozinofil sayıları ve eozinofil yüzdeleri arasında ilişkiyi göstermek istedik. Literatüre bakıldığında bu ilişkinin gösterildiği çalışma olmadığı görüldü. Çalışmamızda atopik, atopik olmayan ve kontrol grupları arasında eozinofil yüzdeleri açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmadı. Ancak atopik astımı olan hasta grubu ve kontrol grubu karşılaştırıldığında literatürle uyumlu olacak şekilde istatistiksel anlamlı fark izlendi.

6. SONUÇLAR

1. Çalışmamızda atopik astım, atopik olmayan astım ve sağlıklı çocukların nefes havası sHLA-G düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı.
2. En sık duyarlılık polenlere (%44), ikinci sıklıkta akarlara (%22) , üçüncü sıklıkta ise küf mantarına (%16) idi.
4. Atopik, atopik olmayan astım ve sağlıklı çocukların solunum fonksiyon test parametreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.
5. Atopik olmayan astım ve sağlıklı çocukların solunum fonksiyon testlerinde ise FEF₂₅₋₇₅ yüzdesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu.
6. Atopik astım, atopik olmayan astım ve sağlıklı çocukların eozinofil yüzdeleri ve eozinofil sayıları karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.
7. Atopik astım ve sağlıklı çocukların eozinofil yüzdelerine bakıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark vardı.
8. Korelasyon analizlerine bakıldığında atopik astımlı grupta nefes havası sHLA-G düzeyleri kan eozinofil sayıları ile korelasyon göstermezken FEV1 litre ve FEF 25-75 litre değerleri ile ters korelasyon gösteriyordu.
9. Diğer gruplarda korelasyon analizlerinde herhangi bir fark saptanmadı

KAYNAKLAR

1. Global strategy for asthma management and prevention. Global Initiative for Asthma, 2012.
2. British Thoracic Society and Scottish Intercollegiate Guidelines Network. British Guideline on the Management of Asthma: A National Clinical Guideline, 2011.
3. Bacharier LB, Guilbert TW. Diagnosis and management of early asthma in preschool-aged children 2012; 130: 287-96.
4. The ISAAC steering committee worldwide variations in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis and atopic eczema. The international study of asthma and allergies in childhood. Lancet 1998; 352: 25-32.
5. Masoli M, Fabian D, Holt S, et al. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report. Allergy 2004; 59: 469–478.
6. Teeratakulpisarn J, Wiangnon S, Kosalaraksa P, et al. Surveying the prevalence of asthma, allergic rhinitis and eczema in school-children in Khon Kaen, Northeastern Thailand using the ISAAC questionnaire: phase III. Asian Pac J Allergy Immunol 2004; 22: 175–181.
7. Weis ST. Asthma Epidemiology risk factors and natural history in: Bierman CW. Allergy, asthma and immunology from infancy adulthood. W. B. Saunders. Company Philadelphia 1995; 6: 472-484.
8. Arshad SH, Stevens M, Hide DW. The effect of genetic and environmental factors on the prevalence of allergic disorders at the age of two years. Clin Exp Allergy 1993; 23: 504-511.
9. Dold S, Wjst M, von Mutius E. Genetic risk for asthma, allergic rhinitis and atopic dermatitis. Arch Dis Child 1992; 67: 1018-1022.

10. Laitinen T, Polvi A, Rydman P. Characterization of a common susceptibility locus for asthma related traits. *Science* 2004; 304: 300.
11. Moffatt MF, Kabesch M, Liang L. Genetic variants regulating ORMDL3 expression contribute to the risk of childhood asthma. *Nature* 2007; 448: 470.
12. Burchard EG, Silverman EK, Rosenwasser LJ. Association between a sequence variant in the IL-4 gene promoter and FEV1 in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 160: 919.
13. Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ* 1989; 2: 59-60.
14. Becklake MR, Ernst P. Environmental factors. *Lancet* 1997; 350: 10-13.
15. Shore SA, Fredberg JJ. Obesity, smooth muscle, and airway hyperresponsiveness. *Allergy Clin Immunol* 2005; 115: 925–927.
16. Beuther DA, Weiss ST, Sutherland ER. Obesity and asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 174:112–119.
17. Shore SA. Obesity and asthma: possible mechanisms. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 1087-1093.
18. Drazen JM, Weiss ST. Genetics: inherit the wheeze. *Nature* 2002; 418: 383-384.
19. Wahn U, Lau S, Bergmann R, et al. Indoor allergen exposure is a risk factor for sensitization during the first three years of life. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99:763–769.
20. Arshad SH. Primary prevention of asthma and allergy. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116: 3-14.
21. Martinez FD. New insights into the natural history of asthma: Primary prevention on the horizon. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 128: 939-945.
22. Stein RT, Sherrill D, Morgan WJ, et al. Respiratory syncytial virus in early life and risk of wheeze and allergy by age 13 years. *Lancet* 1999; 354:541–545.

23. Illi S, von Mutius E, Lau S, Bergmann R, et al. Early childhood infectious diseases and the development of asthma up to school age: a birth cohort study. *BMJ* 2001; 322: 390–395.
24. De Meer G, Janssen NA, Brunekreef B. Early childhood environment related to microbial exposure and the occurrence of atopic disease et school age. *Allergy* 2005; 60: 619–625.
25. Dezateux C, Stocks J, Dundas I. Impaired airway function and wheezing in infancy: the influence of maternal smoking and a genetic predisposition to asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 403-10.
26. Gilliland FD, Li Y-F, Peters JM. Effects of maternal smoking during pregnancy and environmental tobacco smoke on asthma and wheezing in children. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 429-436.
27. Chalmers GW, Macleod KJ, Litle SA, et al. Influence of cigarette smoking on inhaled corticosteroid treatment in mild asthma. *Thorax* 2002; 57: 226-230.
28. Chaudhuri R, Livingston E, McMahon AD. Cigarette smoking impairs the therapeutic response to oral corticosteroids in chronic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168:1308-1311.
29. Gauderman WJ, Avol E, Gilliland F, et al. The effect of air pollution on lungdevelopment from 10 to 18 years of age. *N Engl J Med* 2004; 351: 1057–67.
30. Chulada PC, Arbes JS, Dunson D, et al. Breast feeding and the prevalance of asthma and wheeze in children. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 328-36.
31. Dell S. Breastfeeding and asthma in young children: Findings from a population-based study. *Arch Pediatr Adolesc Med* 2001; 155: 1261-5.
32. Oddy WH, Holt PG, Sly PD, et al. Assosiation between breastfeeding and asthma in 6 year old children: Finding of a prospective birth cohort study. *Br Med J* 1999; 319: 815-9.

33. Devereux G, Seaton A. Diet as a risk factor for atopy and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115:1109-1117.
34. Allan K, Devereux G. Diet and asthma: nutrition implications from prevention to treatment. *J Am Diet Assoc* 2011; 111: 258-268.
35. Weitzman M, Gortmaker S, Sobol A. Racial, social, and enviromental risk for childhood asthma. *Am J Dis Child* 1990; 144:1189-94.
36. Karaman O, Türkmen M, Uzuner N. Allergic disease prevalence in Izmir. *Allergy* 1997; 526: 689-90.
37. Fagnani C. Heritability and shared genetic effects of asthma and hay fever: an Italian study of young twins. *Twin Res Hum Genet* 2008; 11: 121–131.
38. Contopoulos Ioannidis DG, Kouri IN, Ioannidis JP. Genetic Predisposition to Asthma and Atopy. *Respiration* 2007; 74: 8-12.
39. Kim SH, Park HS. Genetic markers for differentiating aspirin-hypersensitivity. *Yonsei Med J* 2006; 47: 15-21.
40. Demoly P, Bousquet J, Godard P,et al. The gene or genes of allergic asthma? *Presse Med* 1993; 22: 817-21.
41. Jian Zhang, Peter D Paré, Andrew J Sandford. Recent advances in asthma genetics. *Respir Res* 2008; 15: 9-4.
42. Vieira V, Ronana AM, Windt MR, et al. Elevated atopy in healty obese women. *Am J Clin Nutr* 2005; 82: 504-9.
43. Asher I, Baena-Cagnani C, Boner A,et al. World Allergy Organization guidelines for prevention of allergy and allergic asthma. *Int Arch Immunol* 2004; 135: 83-92.
44. Lee YA, Wahn U, Kehrt R, et al. A major susceptibility locus for atopic dermatitis maps to chromosome 3q21. *Nat Genet* 2000; 26: 470-3.

45. Karaman O, Turgut CS, Uzuner N, vd. The determination of asthma, rhinitis, eczema, and atopy prevalence in 9- to 11-year-old children in the city of Izmir. *Allergy Asthma Proc* 2006; 27: 319-24.
46. Strunk RC. Defining asthma in the preschool-aged child. *Pediatrics*, 2002; 109: 357-61.
47. Bierbaum S, Heinzmann A. The genetics of bronchial asthma in children. *Respiratory Medicine* 2007; 101: 1369–1375.
48. Denham S, Koppelman G H, Blakey J, et al. Meta-analysis of genome-wide linkage studies of asthma and related traits *Respiratory Research* 2008, 9: 38.
49. Zhang Y, Leaves NI, Anderson GG. Positional cloning of a quantitative trait locus on chromosome 13q14 that influences immunoglobulin E levels and asthma. *Nat Genet* 2003, 34: 181-186.
50. Borish L, Steinke JW. Interleukin-33 in asthma: how big of a role does it play? *Curr Allergy Asthma Rep* 2011; 11: 7–11.
51. Lloyd CM. IL-33 family members and asthma - bridging innate and adaptive immune responses. *Curr Opin Immunol* 2010; 22: 800–806.
52. Sibbald B, Horn ME, Brain EA, Gregg I. Genetic factors in childhood asthma. *Thorax* 1980; 35: 671-4.
53. Edfors Lubs ML. Allergy in 7000 twin pairs. *Acta Allergol* 1971; 26: 249-85.
54. Dold S, Wjst M, von Mutius E, et al. Genetic risk for asthma, allergic rhinitis, and atopic dermatitis. *Arch Dis Child* 1992; 67: 1018-22
55. Weinmayr G, Weiland SK, Bjorksten B, et al. Atopic sensitization and the international variation of asthma symptom prevalence in children. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176: 565-74.
56. Arbes SJ Jr, Gergen PJ, Vaughn B, et al. Asthma cases attributable to atopy: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120: 1139–1145.

57. Sandford AJ, Weir TD, Pare PD. The genetics of asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 13: 1749-65.
58. Cookson WO, Sharp PA, Faux JA, et al. Linkage between immunoglobulin E responses underlying asthma and rhinitis and chromosome 11q. *Lancet* 1989; 1: 1292-5.
59. Henderson J, Granell R, Heron J, et al. Associations of wheezing phenotypes in the first six years of life with atopy, lung function and airway responsiveness in mid childhood. *Thorax* 2008; 63: 974–80.
60. Aoki T, Hirota T, Tamari M, et al. An association between asthma and TNF - 308G/A polymorphism: meta-analysis. *J Hum Genet* 2006; 51: 677–685.
61. Kedda MA, Shi J, Duffy D, et al. Characterization of two polymorphisms in the leukotriene C4 synthase gene in an Australian population of subjects with mild, moderate, and severe asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 113: 889– 895.
62. Eder W, Klimecki W, Yu L, et al. Opposite effects of CD 14/-260 on serum IgE levels in children raised in different environments. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116: 601–607.
63. Guilbert TW, Morgan WJ, Zeiger RS, et al. Atopic characteristics of children with recurrent wheezing at high risk for the development of childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114: 1282– 1287.
64. Illi S, von ME, Lau S, et al. Perennial allergen sensitisation early in life and chronic asthma in children: a birth cohort study. *Lancet* 2006; 368: 763–770.
65. Lee SG, Kim BS, Kim JH, et al. Gene-gene interaction between interleukin-4 and interleukin-4 receptor alpha in Korean children with asthma. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 1202-8.
66. Howard TD, Koppelman GH, Xu J et al. Gene-gene interaction in asthma: IL4RA and IL13 in a Dutch population with asthma. *Am J Hum Genet* 2002; 70: 230-6.

67. Hoffjan S, Ober C: Present status on the genetic studies of asthma. *Curr Opin Immunol* 2002; 14: 709-717.
68. Ma Z, Jhun B, Jung SY ve ark. Binding of upstream stimulatory factor 1 to the E-box regulates the 4G/5G polymorphism-dependent plasminogen activator inhibitor 1 expression in mast cells. *J Allergy Clin Immunol* 2008; 121: 1006-1012.
69. Vercelli D. Discovering susceptibility genes for asthma and allergy. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 169-82.
70. Broide DH, Finkelman F, Bochner BS. Advances in mechanisms of asthma, allergy and immunology in 2010. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 127: 689-695.
71. Holgate ST. The sentinel role of the airway epithelium in asthma pathogenesis. *Immunol Rev* 2011; 242: 205-219.
72. Krishna MT, Salvi SS, Holgate ST, et al. Patogenesis of Asthma. *Clinical Immunology Principles and Practice* 2001; 49-49.12
73. Robinson DS. The role of the T cell in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2010; 126: 1081-1091.
74. Robinson DS. Regulatory T cells and asthma. *Clin Exp Allergy* 2009; 39: 1314-1323.
75. Saggini A, Maccauro G, Tripodi D, et al. Allergic inflammation: role of cytokines with special emphasis on IL-4. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2011; 24: 305-311.
76. Holgate S. A look at the pathogenesis of asthma: the need for a change in direction. *Discov Med* 2010; 48: 439-447.
77. Bradding P, Walls AF, Holgate ST. The role of the mast cell in the pathophysiology of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117:1277-1284.

78. Kato M, Suzuki M, Hayashi Y. Role of eosinophils and their clinical significance in allergic inflammation. *Expert Rev Clin Immunol* 2006; 2: 121-133.
79. Bach JF, Francois Bach J. Regulatory T cells under scrutiny. *Nat Rev Immunol* 2003; 3: 189–198.
80. Robinson DS. The role of the mast cell in asthma: induction of airway hyperresponsiveness by interaction with smooth muscle? *J Allergy Clin Immunol* 2004; 114: 58-65
81. Peters-Golden M. The alveolar macrophage: the forgotten cell in asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2004; 31: 3-7.
82. James A. Airway remodelling in asthma. *Curr Opin Pulm Med* 2005; 11: 1-6.
83. Cohn L, Elias JA, Chupp GL. Asthma: mechanisms of disease persistence and progression. *Annu Rev Immunol* 2004; 22: 789- 815.
84. Bousquet J, Jeffery PK, Buse WW, Johnson M, et al. Asthma. From bronchoconstriction to airways inflammation and remodelling. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1720-45.
85. Kay AB, Phipps S, Robinson DS. A role for eosinophils in airway remodelling in asthma. *Trends Immunol* 2004; 25: 477-82.
86. Larche M, Robinson DS, Kay AB. The role of T lymphocytes in the pathogenesis of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111: 450-63.
87. Kuipers H, Lambrecht BN. The interplay of dendritic cells, Th2 cells and regulatory T cells in asthma. *Curr Opin Immunol* 2004; 16: 702-8.
88. Wen el S. Mechanisms of severe asthma. *Clin Exp Allergy* 2003; 33: 1622-8.
89. Nockher WA, Renz H. The role of neurotrophins in the pathogenesis of asthma and related diseases: allergy and asthma as prototypic neuro-immune diseases? *Clin Exp Allergy* 2002; 32: 1266-8.

90. Gangliardo R, Chanez P, Mathieu M, et al. Persistent activation of nuclear factor-kappa B signaling pathway in severe uncontrolled asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168: 1190-98.
91. Barnes PJ, Chung KF, Page CP. Inflammatory mediators of asthma: an update. *Pharmacol Rev* 1998; 50: 515–96.
92. Leff AR. Regulation of leukotrienes in the management of asthma: biology and clinical therapy. *Annu Rev Med* 2001; 52: 1-14.
93. Janssen-Heininger YM, Poynter ME, Aisif SW, Pantano C, et al. Nuclear factor kappaB, airway epithelium, and asthma: avenues for redox control. *Proc Am Thorac Soc* 2009; 6: 249-55.
94. Zhao S, Qi Y, Liu X, et al. Activation of NF-kappa B in bronchial epithelial cells from children with asthma. *Chin Med J* 2001; 114: 909-11.
95. Das J, Chen CH, Yang L, et al. A critical role for NF-kappa B in GATA3 expression and Th2 differentiation in allergic airway inflammation. *Nat Immunol* 2001; 2: 45-50.
96. Vignola AM, Mirabella F, Costanzo G, et al. Airway remodelling in asthma. *Chest* 2003; 123: 417-22.
97. Li X, Wilson JW. Increased vascularity of the bronchial mucosa in mild asthma. *Am J Resp* 1997; 150: 229-233.
98. Ordonez CL, Khashayar R, Wong HH, et al. Mild and moderate asthma is associated with airway goblet cell hyperplasia and abnormalities in mucin gene expression. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 517-23.
99. Anderson SD. Exercise-induced asthma in children: a marker of airway inflammation. *Med J Aust* 2002; 177: 61–63
100. Spahn J, Covar R, Stempel DA. Asthma: Addressing consistency in results from basic science, clinical trial, and observational experience. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: 490-502.

101. Global strategy for asthma management and prevention. National Institutes of Health. NIH publication 2005; 02: 36-59
102. Martinez FD. Recognizing early asthma. *Allergy* 1999; 54: 24-8.
103. Papadopoulos NG, Arakawa H, Carlsen K-H, et al. International consensus on pediatric asthma. *Allergy* 2012; 67: 976-997.
104. Nair SJ, Daigle KL, DeCuir P, et al. The influence of pulmonary function testing on the management of asthma in children. *J Pediatr* 2005; 147: 797–801.
105. Bacharier LB, Boner A, Carlsen KH, et al. Diagnosis and treatment of asthma in childhood: a PRACTALL consensus report. European Pediatric Asthma Group *Allergy* 2008; 63: 5-34.
106. Cockcroft DW, Murdock KY, Berscheid BA, et al. Sensitivity and specificity of histamine PC20 determination in a random selection of young college students. *J Allergy Clin Immunol* 1992; 89: 23-30
107. Host A, Andrae S, Charkin S, et al. Allergy testing in children: why, who, when and how? *Allergy* 2003; 58: 559–69.
108. Clinical and Technical Factors Affecting Ph and Other Biomarkers in Exhaled Breath Condensate. *Pediatric Pulmonology* 2006; 41; 87-94.
109. Sergei A, Kharitonov, Peter J Barnes. Exhaled markers of inflammation. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 2001; 1; 217-224.
110. Brzozowska A, Majak P, Jerzyńska J. Exhaled nitric oxide correlates with IL-2, MCP-1, PDGF-BB and TIMP-2 in exhaled breath condensate of children with refractory asthma 2015; 32;107-13.
111. Profita M, La Grutta S, Carpagnano E, et al. Noninvasive methods for the detection of upper and lower airway inflammation in atopic children. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118:1068-1074.

112. Higlights of the Expert Panel Report 2. Gudelines for the Diagnosis and Management of Asthma National Institute of Health, National Heart, Lung and Blood Institute Publication 2007: 23; 46-58.
113. Geraghty, Koller B, Orr H,et al. Human Major Histocompatibility Complex Class I Gene That Encodes a Protein with Shortened Cytoplasmic Segment. Proc. Natl. Acad Sci 1987; 84; 9145–9149.
114. Rosenblum MD, Remedios KA, Abbas AK et al. Mechanisms of human autoimmunity 2015; 125: 2228-2233.
115. Favier B, Lemaoult J, Rouas-Freiss N,et al. Research on HLA-G: an update. Tissue Antigens 2007; 69: 207-211
116. Thomson G. HLA disease associations: models for the study of complex human genetic disorders. Crit Rev Clin Lab Sci 2003; 40: 117-149.
117. Van der Meer, H.G. Lukassen, B. van Cranenbroek, et al. Soluble HLA-G promotes Th1-type cytokine production by cytokine-activated uterine and peripheral natural killer cells Mol Hum Reprod 2007; 52: 123–133
118. Hillman RT, Ward K, Saenz C,et al. Barriers prevent patient access to personalized therapies identified by molecular tumor profiling of gynecologic malignancies 2015; 5: 165-73.
119. Tilburgs T, Crespo C, Van der Zwan ,et al. Human HLA-G+ extravillous trophoblasts: Immune-activating cells that interact with decidual leukocytes 2015; 07: 9-77
120. Rebmann V, Busemann A, Lindemann M, et al. Detection of HLA- G5 secreting cells. Hum Immunol 2003; 64: 1017-1024.
121. Nuckel H, Rebmann V, Durig J, et al. HLA-G expression is associated with an unfavorable outcome and immunodeficiency in chronic lymphocytic leukemia. Blood 2005; 105: 1694-1688.

122. Hunt, J. S. Major histocompatibility antigens in reproduction. *The Endometrium* 2002; 100: 405-415
123. Bahri R, Hirsch F, Josse A, et al. Soluble HLA-G inhibits cell cycle progression in human alloreactive T lymphocytes. *J Immunol* 2006; 176: 1331–9.
124. Van der Meer A, Lukassen HG, van Cranenbroek B, et al. Soluble HLA-G promotes Th1-type cytokine production by cytokine-activated uterine and peripheral natural killer cells. *Mol Hum Reprod* 2007; 13: 123–33.
125. Nicolae D, Cox NJ, Lester LA, et al. Fine mapping and positional candidate studies identify HLA-G as an asthma susceptibility gene on chromosome 6p21. *Am J Hum Genet* 2005; 76: 349–357
126. Tan Z, Randall G, Fan J, et al. Allele-specific targeting of microRNAs to HLA-G and risk of asthma. *Am J Hum Genet* 2007; 81: 829–834.
127. Zheng XQ, Li CC, Xu DP, et al. Analysis of the plasma soluble human leukocyte antigen-G and interleukin-10 levels in childhood atopic asthma *Hum Immunol* 2010; 71: 982-7
128. Tahan F, Patiroglu T. Plasma soluble human leukocyte antigen G levels in asthmatic children. *Int Arch Allergy Immunol* 2006; 141:213-6
129. Ciprandi G, De Amici M, Caimmi S, et al. Soluble serum HLA-G in children with allergic rhinitis and asthma, *J Biol Regul Homeost Agents* 2010; 24: 221-4
130. Rizzo R, Mapp C, Melchiorri L, et al. Defective production of soluble HLA-G molecules by peripheral blood monocytes in patients with asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005;115:508–13.
131. White SR, Loisel DA, McConville JF, et al. Levels of soluble human leukocyte antigen-G are increased in asthmatic airways. *Eur Respir J* 2010; 35: 925-7
132. Cosmi L, Santarlasci V, Angeli R, et al. Sublingual immunotherapy with *Dermatophagoides* monomeric allergoid down-regulates allergen-specific

immunoglobulin E and increases both interferon- γ - and interleukin- 10- production. Clin Exp Allergy 2006; 36: 261–72.

133. Kapasi K, Albert SE, Yie SM, et al. HLA-G has a concentrationdependent effect on the generation of an allo-CTL response. Immunology 2000; 101: 191–200.
134. Fairchild C, Stampfer J: Particle concentration in exhaled breath. Am Ind HygAssoc J.1987; 48; 948-949.
135. Baecher Allan C, Haffler DA. Suppressor T-cells in human diseases. J Exp Med 2004; 200: 273-6
136. Pascual RM, Peters SP. Airway remodeling contributes to the progressive loss of lung function in asthma: an overview. J Allergy Clin Immunol 2005; 116: 477-486.
137. Galli SJ, Tsai M, Piliponsky AM. The development of allergic inflammation. Nature 2008; 454: 445-454.
138. Stirling RG, Chung FK. New immunologic approaches and cytokine targets in asthma and allergy. Eur Respir J 2000; 16: 1158-74.
139. Vieira PL. IL-10 secreting regulatory T-cells do not express Foxp3 but have comparable regulatory function to naturally occurring CD4⁺ CD25⁺. J Immunol 2004; 172: 5986-93.
140. Szabo SJ. Distinct effects of T-bet in Th1 lineage commitment and IFN-gamma production in CD4 and CD8 T-cells. Science 2002; 295:338- 42.
141. Sekerel BE, Civelek E, Karabulut E, vd. Are risk factors of childhood asthma predicting disease persistence in early adulthood different in the developing world? Allergy 2006; 61: 869-77
142. Burrows B: Martinez FD, Halonen B, et al. Association of asthma with serum Ig E levels and skin-test reactivity to allergens. N Engl J Med 1989; 320:271-277
143. Leung TF, Li AM, Ha G. Allergen sensitisation in asthmatic children: consecutive case series. Hong Kong Medical Journal 2000; 6: 355-360.

144. Penny ME, Murad S, Madrid SS, et al. Respiratory symptoms, asthma, exercise test spirometry, and atopy in school children. *Thorax* 2001; 56: 607-12.
145. Davutoğlu M, Bilici M, Dağlı A, vd. Analysis of factors related to total serum IgE levels in children with bronchial asthma. *Dicle Tıp Derg* 2000; 27: 21-29.
146. Akçakaya N, Çokuğraş H, Camcıoğlu Y, vd. Skin test hypersensitivity for childhood asthma in İstanbul during a period of 16 years. *Allergologia et Immunopathologia* 2005; 33: 15-19.
147. Pearce N, Pekkanen J, Beasley R. How much asthma is really attributable to atopy? *Thorax* 1999; 54: 268–272.
148. Pearce N, Douwes J, Beasley R. Is allergen exposure the major cause of asthma? *Thorax* 2000; 55: 424–431.
149. Gürkan F, Davudoglu M, Bilici M, vd. Asthmatic children and risk factors at a province in the Southeast of Turkey. *Allergol Immunopathol.* 2002; 30: 25-29.
150. Couriel JM, Child F. Applied physiology: Lung function testing in children. *Current Pediatr* 2004; 14: 444-51.
151. Beydon N, Amsallem F, Bellet M et al. Pulmonary function tests in preschool children with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166:1099-104.
152. McKenzie SA, Bridge PD, Pao CS. Lung function tests for pre-school children. *Paediatr Respir Rev* 2001; 2: 37-45
153. Crapo R.O. Pulmonary function testing. *N Eng J Med* 1994; 331: 25-30.
154. Yıldırım N, Akçakaya N, Aydemir E.H, vd. Bronş astımı ve allerjik rinit. *Allerjiler* 2001; 9: 91-104.
155. Bracke M, Van De Graaf E, Lammers JW, et al. In vivo priming of FcR functioning on eosinophils of allergic asthmatics. *J Leukoc Biol* 2000; 68: 655–657

156. Liu L, Jarjour NN, Busse WW, et al. Enhanced generation of helper T type 1 and type 2 chemokines in allergen induced asthma. *Allergy and Immunology* 2003; 92: 118-124.
157. Chererhes Panta P, Popa M, Iacob D, Mureson M. In Process Citation *Pneumologia* 2003; 52: 134-40.
158. Bousquet J, Chanaz P, Lacoste JY, et al. Eosinophilic inflammation in asthma. *N Engl J Med* 1990; 323: 1033–1039.
159. Louis R, Lau LC, Bron AO, et al. The relationship between airways inflammation and asthma severity. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 9–16
160. Berry M, Morgan A, Shaw DE, et al. Pathological features and inhaled corticosteroid response of eosinophilic and non-eosinophilic asthma. *Thorax* 2007; 62: 1043–1049.
161. John V. Fahy. Eosinophilic and Neutrophilic Inflammation in Asthma, *Proceedings of the American Thoracic Society* 2009; 6; 256-259.
162. Saraclar Y, Kuyucu S, Tuncer A, vd. Prevalence of asthmatic phenotypes and bronchial hyperresponsiveness in Turkish schoolchildren: an International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) phase 2 study. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2003; 91: 477-84.
163. The international study of asthma and allergies in childhood steering committee. Worldwide variations in the prevalence of asthma symptoms: The international study of asthma and allergies in childhood (ISSAC). *Eur Respir J* 1998; 12: 315 - 335.
164. Ciprandi G, Corsico A, Pisati P. Serum-soluble HLA-G is associated with specific IgE in patients with allergic rhinitis and asthma 2014; 37: 1630-4
165. Avelino MA, Wastowski IJ, Ferri RG . The human leukocyte antigen G molecule (HLA-G) expression in patients with nasal polyposis 2014; 80: 208-212.

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Burak Barış YILMAZ'a ait " **ASTIMLI ÇOCUKLARDA NEFES HAVASI
sHLA-G DÜZEYLERİ**" adlı uzmanlık tezi, jürimiz tarafından Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Tıpta Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: .../.../.....

JÜRİ

İmza

Başkan:

Üye :

Üye :