

T1503

T.C

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI

ANABİLİM DALI

AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
MERKEZ KÜTÜPHANESİ

**BRONŞİAL ASTIMLI ÇOCUKLARDA
TRANSFORMİNG GROWTH FAKTÖR BETA - 1
“
GEN POLİMORFİZMİ**

T1503

UZMANLIK TEZİ

Dr. OĞUZ DURSUN

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Olcay YEĞİN

“ Tezinden Kaynakça Gösterilerek Yararlanılabilir ”

ANTALYA, 2003

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasındaki katkılarından dolayı tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Olcay Yeğın'e, Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Akif Yeşilipek'e, immünoloji laboratuvarı çalışanlarına, istatistiksel çalışmalarda yardımcı olan Kemal Hakan Gülkesen'e, uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalıştığımız tüm öğretim üyeleri ile asistan arkadaşlarıma ve her zaman büyük destek gördüğüm aileme sonsuz teşekkürler...

İÇİNDEKİLER

- 1- Giriş ve amaç.....: 1
- 2- Genel bilgiler.....: 3
"
- 3- Olgular ve Metod.....: 21
- 4- Sonuçlar.....: 23
- 5- Tartışma.....: 27
- 6- Özet.....: 29
- 7- Kaynaklar.....: 30

GİRİŞ VE AMAÇ

Astım, solunum yollarının kronik inflamatuvar hastalığıdır. Bu inflamasyonda mast hücreleri, eozinofiller, T lenfositler, makrofajlar, nötrofiller ve epitel hücreleri gibi birçok hücre ve bu hücrelerden salınan maddeler rol oynar. Yatkinlığı olan bireylerde, bu inflamasyon özellikle gece veya sabaha yakın saatlerde, tekrarlayan hırıltılı solunum ataklarına, solunum sıkıntısına ve öksürüğe neden olur. Bu ataklar genellikle, spontan olarak veya tedavi ile geri dönebilen, yaygın, fakat değişken düzeylerde hava akımı obstrüksiyonu ile ilişkilidir. İnflamasyon aynı zamanda çeşitli uyaranlara karşı bronş aşırı duyarlılığına neden olur (1).

Aynı aile bireylerinde astım sıklığına sıklığına ait gözlemler astımın genetik temellerini destekler. İkiz çalışmaları, çift yumurta ikizlerinde % 48-33, tek yumurta ikizlerinde % 12-89 oranında ikizlerin her ikisinde birlikte astım varlığını göstermektedir. Astımlı hastaların birinci derece akrabalarında astım riski 3 ile 6 kat artmıştır. Ebeveynlerden biri astımlı ise riskin iki katına çıktığı bildirilmiştir (2,3,4,5).

Bir popülasyonda mevcut olan genetik çeşitliliğe polimorfizm denir. İnsan genomunda tek baz değişiklikleri çok sıktır. Bu nükleotid değişikliklerinin büyük çoğunluğu zararsızdır. DNA polimorfizmi, DNA üzerinde hastalığa neden olmayan, suskun nükleotid değişimleri olarak tanımlanır (6). Bir genin promotör dizindeki polimorfizm anormal transkripsiyon düzenlenmesine neden olarak, hastalığın ortaya çıkmasına veya şiddetinin değişmesine katkıda bulunabilir (7).

TGF- β ; immünitadaki temel rolü anti-inflamatuvar olmakla birlikte proinflamatuvar etkiler de gösterebilen bir sitokindir (8). Antijen sunan hücrelerin fonksiyonlarını düzenleyerek ve makrofajları deaktive ederek, indirek olarak T hücre aktivasyonunu inhibe eder(8,9). İnsan akciğerlerinde eksprese olduğu gösterilmiştir(10,11). TGF- β knock out farelerin akciğerleri de içeren birçok organda, diffüz mononükleer hücre infiltrasyonu nedeniyle öldükleri gözlenmiştir (12). TGF- β 'nın mast hücre proliferasyonunu ve IgE sentezini önleyerek allerjik inflamasyon gelişimini baskıladığı gösterilmiştir. Ayrıca TGF- β , eozinofillerin yaşam süresini uzatan hematopoetinlerin etkilerini önleyerek apoptozlarını uyarır(13). Anti-inflamatuvar etkilerine işaret eden bu gözlemlere karşıt olarak,

allerjik rinit ve nazal polipozisi olan hastaların burun mukozalarından alınan eozinofillerin, artmış IGF- β gen ekspresyonu gösterdikleri saptanmıştır(14) Allerjik bir hastalık geliştikten sonra IGF- β sekresyonu, uzun süreli astımlılardaki irreversibl değişikliklerin ve fibrozisin gelişimine katkıda bulunabilir(10).

Cambien ve arkadaşlarının (15) myokard infarktılı ve sağlıklı kontrollerde yaptığı çalışmada IGF- β 1 geninde 7 polimorfizm tanımlanmıştır: 3 tanesi transkripsiyona katılan ilk nükleotide göre -908, -800 ve -509 pozisyonda genin upstream bölgesinde, 1 tanesi transkripsiyona girmeyen bölgede +72 pozisyonda, 2 tanesi sinyal peptid dizininde Leu¹⁰→Pro, Arg²⁵→Pro, 1 tanesi aktif formda bulunmayan prekürsör kısmı kodlayan gen bölgesinde Thr²⁶³→Ile. Li ve arkadaşları(16) ARMS-PCR tekniğiyle IGF- β 1 codon 25 DNA polimorfizminin hipertansif hastalarda, normotansif olanlara oranla daha fazla Arg²⁵ homozigot olduklarını göstermişlerdir Bu gözlem, genetik olarak kontrol edilen IGF- β 1 protein konsantrasyonlarının kan basıncı düzenlenmesine katkıda bulunabileceğini desteklemektedir. El Gamel ve arkadaşları(17) codon 25 polimorfizminin arginin homozigot olan hastalarda, akciğer allogreft fibrozisi ile ilişkili olduğunu ve aynı zamanda artmış artmış in vitro IGF- β 1 üretimiyle anlamlı ilişki gösterdiğini bildirmişlerdir Karşıt olarak Cotton ve arkadaşları(18)'nın yaptığı çalışmada Arg²⁵→Pro polimorfizmi ile in vitro IGF- β 1 üretimi arasında ilişki bulamamışlardır. L.J. Pulleyn ve arkadaşları(19); C509T polimorfizminin astım şiddetine katkıda bulunduğunu, G915C polimorfizminin astımlı hastalarla kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermediğini rapor etmişlerdir Arkwright ve arkadaşları(20); G915C polimorfizminin atopik dermatit riskini anlamlı derecede artırdığını rapor etmişlerdir

IGF- β 1 G915C polimorfizminin Türk popülasyonundaki allel frekanslarını tespit etmek, diğer popülasyonlarla karşılaştırmak, astım gelişimi, şiddeti, fenotipik belirteçleri ile ilişkisini araştırmak amacıyla bu çalışma planlanmıştır

GENEL BİLGİLER

POLİMORFİZM:

Bir genin lokalizasyonu için gerekli ilk bilgiler, bir ailede bilinen bir kromozomal lokalizasyonda var olan mutant bir genin kalıtımının karşılaştırılması ile elde edilir. Bir hastalık geni ile bir belirleyici genin birlikte kalıtılması, bu iki noktanın kromozom üzerinde fiziksel olarak birlikte olduğunu düşündürür.

Yakın zamana kadar bir proteinin davranış farklılığı; enzimatik aktivitesi veya elektroforetik mobilitesi ile belirleniyordu. O nedenle de genetik analizler için gerekli polimorfizmler, sınırlı olarak bulunmaktaydı.

Bir popülasyonda mevcut olan genetik çeşitliliğe polimorfizm denir. Bu doğal farklılıklar kuşaktan kuşağa Mendel yasalarına göre aktarılırlar. İnsan genomunda tek baz değişiklikleri çok siktir. Bazılarına göre bu sıklık her 100 baz çiftinde bir olarak ortaya çıkmaktadır. Bu nükleotid değişikliklerinin büyük çoğunluğu zararsızdır.

DNA polimorfizmi, DNA üzerinde hastalığa neden olmayan, suskun nükleotid değişimleri olarak tanımlanır.

Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR), DNA'nın iki zincirinin yüksek ısıda birbirinden ayrılması (denatürasyon); daha sonra sentetik oligonükleotidlerin DNA'ya bağlanması (hibridizasyon); sonra zincirin uzaması (polimerizasyon) ve bu reaksiyonların belirli sayıda tekrarlanmasına dayanır. Bu üç adım ile (denatürasyon / primer bağlanması / DNA sentezi) PCR reaksiyonu oluşturulur. Her adım farklı ısılarla gerçekleştirilir. Yöntemin temeli, çoğaltılmak istenen bölgenin iki ucuna özgü, bu bölgedeki baz dizilerine tamamlayıcı bir çift sentetik tamamlayıcı primer (18-20 baz uzunluğunda) kullanılarak; bu iki primer ile sınırlandırılan genin enzimatik olarak sentezlenmesine dayanır.

Amplification refractory mutation system (ARMS) polimorfizmlerin, nadir varyantların ve mutasyonların belirlenmesi için çok değişik hastalıklarda kullanılmıştır. Hızlı, kolay, ucuz olması ve radyoaktif madde kullanılmaması önemli avantajlarıdır. Nokta mutasyonların tespit edilmesi için geliştirilmiş bir tekniktir. Burada mutasyona uyan ve uymayan nükleotidlere uygun sentetik nükleotid dizileri eşliğinde PCR yapılır (6).

Bir genin promotor dizinindeki polimorfizm anormal transkripsiyon düzenlenmesine neden olarak, hastalığın ortaya çıkmasına veya şiddetinin değişmesine katkıda bulunabilir (7).

ASTIM:

Astım, solunum yollarının kronik inflamatuvar hastalığıdır. Bu inflamasyonda mast hücreleri, eozinofiller, T lenfositler, makrofajlar, nötrofiller ve epitel hücreleri gibi birçok hücre ve bu hücrelerden salınan maddeler rol oynar. Yatkinlığı olan bireylerde, bu inflamasyon özellikle gece veya sabaha yakın saatlerde, tekrarlayan hırıltılı solunum ataklarına, solunum sıkıntısına ve öksürüğe neden olur. Bu ataklar genellikle, spontan olarak veya tedavi ile geri dönebilen, yaygın, fakat değişken düzeylerde hava akımı obstrüksiyonu ile ilişkilidir. İnflamasyon aynı zamanda çeşitli uyaranlara karşı bronş aşırı duyarlılığına neden olur (1).

Prevalans, mortalite ve morbiditesinde son yirmi yılda artış olduğu gözlenmiştir. Bu artışa katkıda bulunan faktörler bütünüyle aydınlatılmamış olmasına karşın; ailede atopi öyküsünün varlığı gibi genetik etkiler, hava kirliliği, yaşam tarzının modernleşmesi, erken çocukluk döneminde viral veya bakteriyel ajanlarla karşılaşma, allerjen maddelerle temas ve diyet ilişkili bulunmuştur(21).

Prevalans

Antalya'da 7-16 yaş arasındaki 2200 çocuk tarandığında doktor tanıli astım prevalansı %14,8 bulunmuştur(22)

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesinin 1991-1992 yıllarında Ankara'da yaptığı 6-13 yaş grubu 3024 okul çocuğunu kapsayan çalışmada; ülkemizde astım prevalansı % 6,9, allerjik rinit, % 11,7, atopik dermatit % 2,6 olarak saptanmıştır (23). Samsun'da 1991-1992 yıllarında, 6-14 yaş grubunda 3118 okul çocuğunu kapsayan çalışmada ise; astım % 10,2, allerjik rinit % 11,0 ve atopik dermatit % 6,3 olarak bulunmuştur (24). İzmir'de 1992-1993 yıllarında benzer bir çalışmada; 6-13 yaş grubu 3152 çocukta astım prevalansı % 4,9, allerjik rinit % 6,3, atopik dermatit ise % 13,6 olarak saptanmıştır (25). Ege bölgesi illerini kapsayan bir başka çalışma ise, 1993-1994 yıllarında 10-17 yaş grubunda 3646 kişide yapılmış ve astım prevalansı % 3,8, allerjik rinit % 4,6 ve atopik dermatit % 19,4 olarak

saptanmıştır(26) Bu sonuçlar ülkemizdeki atopik hastalık prevalanslarının yaklaşık olarak Avrupa'dakinden çok farklı olmadığını göstermektedir (27)

Astım genetiği:

Astım genetiği, Cooke ve Vander Weer'in 1916'da yayınladığı ilk sistematik araştırma ile birlikte yıllardır incelenmektedir (28)

Aynı aile bireylerinde astım sıklığına sıklığına ait gözlemler astımın genetik temellerini destekler. İkiz çalışmaları, çift yumurta ikizlerinde % 48-33, tek yumurta ikizlerinde % 12-89 oranında ikizlerin her ikisinde birlikte astım varlığını göstermektedir. Astımlı hastaların birinci derece akrabalarında astım riski 3 ile 6 kat artmıştır. Ebeveynlerden biri astımlı ise riskin iki katına çıktığı bildirilmiştir (2,3,4,5). Aile bireylerinde astım sıklığının raporlanması genetik nedenleri destekler, ancak delil sayılamaz. Astım prevalansı yüksektir ve yaygın çevresel faktörler bu bireylerdeki hastalık sıklığının artışına katkıda bulunur. Sigara dumanı, hava kirliliği, evde rutubet küf, hayvan tüyleri, akarlar, fakirlik, viral enfeksiyonlar gibi çeşitli çevresel faktörler astım gelişimine katkıda bulunabilir (29) Astımın kalıtılabilirliğine işaret eden bulgulara rağmen, kalıtım şekli, tutulan genler ve bu genlerin karakteristik özellikleri henüz kesin şekilde gösterilememiştir (30)

Aday gen ve genom taraması çalışmaları, astım patogenezinde genetik faktörlerin rolünü ortaya çıkarmak amacıyla kullanılmıştır. Aday gen araştırmaları kullanılarak çeşitli genetik bölgelerin yatkınlık oluşturduğu öne sürülmüştür. Bunlar:

- ◆ 5 kromozom üzerindeki sitokin gen ailesi bölgesi
- ◆ 6 kromozom üzerinde HLA ve TNF gen bölgeleri
- ◆ 11 kromozom üzerinde yüksek afiniteli reseptör (FcεRI) geni
- ◆ 12 kromozom üzerinde interferon-γ, IGF-1, nükleer faktör-γ β subünitesi ve mast hücre büyüme faktörü gen bölgeleri
- ◆ 14 kromozom üzerinde T hücre reseptör geni
- ◆ 16 kromozom üzerinde IL-4R gen bölgesidir(31)

5. kromozomun uzun kolu alerjik inflamasyonla ilişkili birçok genin yerleştiği bölge gibi görünmektedir. Birçok çalışma IL-4 geninin astımın fenotipik bulguları ile bağlantılı olduğunu ortaya koymuştur. IL-4'ün promotor

bölgesindeki polimorfizmin (C-590T) transkripsiyon faktörünün bağlanma bölgesi olduğu ve genin ekspresyonunu etkileyebileceği bildirilmiştir (32,33). IL-13 ile ilişkili bir varyant olan Arg130Gln'nin astımla bağlantılı olduğu rapor edilmiştir (34) 5q kromozomu üzerindeki; Arg-16, Gly ve Gln-27 gibi β_2 adrenajik reseptör varyantları, agonistlere reseptör cevabını etkiliyor gibi görünmektedir (31,35)

6 kromozom HLA sistemi ile spesifik immun cevap ve TNF- α ile astım arasındaki bilinen ilişkilerden dolayı incelenmiştir Buna karşın, HLA sistemi ile astım fenotipi arasındaki bağlantıya dair az sayıda ikna edici veri sunulmuştur TNF- α , geni kromozom 6p'de MHC bölgesinde olan, proinflamatuvar bir sitokindir. TNF- α geni promotor bölgesinde 308. pozisyondaki değişimin, in vivo artmış TNF- α sekresyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir 308G alleli astımla ilişkili bulunmuştur (36,37)

Fc ϵ RI β ve astım arasındaki ilişki Cookson ve arkadaşlarının(38) gözlemlerine dayanılarak araştırılmıştır Astım patogenezinde yer alan IgE cevabı ile 11q kromozomu arasındaki ilişkiyi rapor etmişlerdir ve bunun Fc ϵ RI β 'yi kodlayan genle ilişkili olduğu öne sürülmüştür. Fc ϵ RI β reseptör varyantları, örneğin Val183Leu, Güney Afrika popülasyonunda astımla bağlantılı bulunmuş ve Glu237Gly'nin, Avustralya'da yapılan bir çalışmada, beyaz Güney Afrika'lılarda astımla ilişkili olduğu rapor edilmiştir(38). Diğer popülasyonlarda bu ilişki doğrulanmamıştır (31,38,39)

Astımla ilgili geniş genom taraması çalışmaları rapor edilmiştir Collaborative Study of the Asthma (CSGA) geniş genom taramaları, çalışmaya alınan popülasyonda; 14q32, 5q31 ve 12q22 kromozomlar üzerinde aday bölgeler ortaya çıkarmıştır(40) Hiçbir bölgenin LOD skoru 3'ün üzerinde bulunmamıştır Alman popülasyonunda yapılmış yaygın genom taramasında kromozom 2pter, 6p, 9q ve 12q üzerinde astımla ilişki rapor edilmiştir (41). Daniels ve arkadaşları (42) İngiltere'de yaptıkları yaygın genom taramalarında kromozom 11 ve 16 üzerinde, P<0.001 olan, potansiyel ilişkili 6 bölge rapor etmişlerdir Fransız genom taramaları 17q12-21 ve 3q, 7q, 8q, 12q gibi diğer olası bölgelerde astımla ilişkiyi gösteren deliller ortaya koymuştur (43) Laitinen ve arkadaşları (44) 7p14-15 üzerinde ve 4. kromozomda ilişki olduğunu öne sürmüşlerdir Bir Japon grubu akar duyarlılığı olan astımlı çocuklarda geniş genom bağlantı çalışmasında 4q35,

5q31-33, 6p22-p21 3, 12q21-q23 ve 13q14 3 kromozomlarını içeren birçok bölgede bağlantı bulmuşlardır (45)

Eldeki verilere göre, geniş genom taraması, astımın spesifik bir kromozomal bölge ile bağlantısı için orta düzeyde istatistiksel deliller sağlıyor görünmektedir. Gen-gen etkileşimleri ve genetik heterojenite sonuçları etkileyebilir. Bu nedenle conditional (koşullu) analiz gibi farklı metodlar kullanılmıştır(36) CSGA conditional analizi astımla güçlü bağlantı gösteren dört bölgede uygulamıştır. Bağlantı, kromozom 1q32, 6p21, 11q21 ve 14q32'de desteklenmiştir (40)

Patofizyoloji

Astımda solunum yollarındaki patolojiye ait ilk bilgiler postmortem incelemelere dayanmaktadır. Küçük ve büyük hava yollarında sekresyon serum proteinleri, inflamatuvar hücreler ve dökülen hücrelerden oluşan plakların varlığı gösterilmiştir. Mikroskopik olarak hava yollarında eozinofiller ve mononükleer hücrelerin infiltrasyonu, vazodilatasyon, mikrovasküler kaçak ve epitel hasarlanmasına işaret eden bulgular gözlenmiştir. Yeni damar oluşumu, epitelial goblet hücrelerinin artması, epitel altında interstisyel kollajen depolanması ile birlikte sıklıkla havayolu düz kası hipertroftiktir (46) Solunum yollarının yeniden yapılanmasına ait bulgular astımda kronik, tekrarlayıcı enflamasyonun ve hava yolları üzerine olan etkilerinin önemini göstermektedir. (1)

Patolojik değişiklikler ile astımın klinik seyri arasındaki ilişkiyi tespit etmek zor olmuştur. Fiberoptik bronkoskopi ile lavaj ve biopsi, hava yolu hastalığının mekanizması ve özgül mukozal enflamasyon ile solunum fonksiyonlarındaki değişkenliğin seyri hakkında yeni kavramlar sağlamıştır.(47,48,49). Astımdaki immun cevap bronşial mukozanın mast hücreleri, eosinofiller, makrofajlar, lenfositler ve plazma hücreleri ile infiltrasyonu ile karakterizedir (50,51). Bu hücreler önceden üretilmiş veya yeni sentez edilen aracı maddelerin salınması yoluyla, doğrudan hava yollarını etkileyerek veya dolaylı nöronal mekanizmalarla solunum fonksiyonlarını değiştirebilir (52) Mast hücreleri ve T helper 2 (T_{h2}) lenfositlerden salınan sitokinler astım patogenezinde rol oynar (53,54) T_h lenfositlerin interlökin 3 (IL-3), IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 ve granülosit koloni stimulan faktör (GM-CSF) ürettiği gösterilmiştir. Buna karşın mast hücreleri IL-4, IL-5, IL-6 ve tümör nekrozis faktör α (TNF α) üretir (54,55). Bu sitokinlerin

salınımı mast hücreleri (IL-3, IL-9), eozinofiller (IL-4, IL-5) ve makrofajların (GM-CSF) olaya katılımı ve matürasyonu ile sonuçlanır (56,57). Eozinofillerin bronş mukozası hasarının oluşumunda primer etkili hücre olduğu düşünülür (58,59) Astmatik cevabın sonraki basamağı B lenfositlerden daha fazla IgE salınımıdır(60) Aynı zamanda, hava yollarını oluşturan fibroblastlar, endotel ve epitel hücreleri; sitokin ve kemokinler aracılığıyla bu sürece katkıda bulunur (1) Vasküler doku, akciğer matrisi ve bronş epitelinde bulunan özgün adhezyon proteinleri solunum yollarındaki hücrelerin bağlanması ve yönetilmesinde kritik role sahip olabilir, buna bağlı olarak bildirilen inflamatuvar değişiklikler oluşur (61).

Hücrelerden kaynaklanan araçlar solunum yollarındaki düz kas tonusunu etkiler, damar geçirgenliğini düzenler, nöronları uyarır, mukus sekresyonunu artırır ve karakteristik yapısal değişikliklere neden olur(62) Bu araçlar silialı solunum yolu epitelini hedef alarak hasarlanmasına veya bozulmasına neden olabilir. Sonuçta epitel hücreleri ve epitel altındaki miyofibroblastlar çoğalır ve bazal membran lamina retikülarisinde interstisyel kollajen birikmeye başlar. Bu durum bazal membran kalınlaşmasını ve bazı astım hastalarında görülebilen geri dönüşsüz hava yolu değişikliklerini açıklayabilir (1)

Solunum fonksiyonları ve hava yolu inflamasyonu arasındaki ilişki:

Solunum yolu aşırı duyarlılığı: Astımda en önemli olay çeşitli uyaranlara karşı aşırı bronkokonstrüktör cevaptır. Hava yolu aşırı duyarlılığı çevresel irritanlar, viral enfeksiyonlar, soğuk hava, egzersiz ve allerjenlerle karşılaşma sonrasında dispne ve wheezing gibi klinik semptomlara neden olur. Araştırmalar hava yolu aşırı duyarlılığının astım patojenezinde önemli olduğunu ve astımın klinik şiddetiyle korelasyon gösterdiğini ortaya çıkarmıştır. (1)

Hava yolu aşırı duyarlılığı metakolin veya histamin kullanılarak inhalasyon challenge testi ile ölçülebileceği gibi, aynı zamanda soğuk kuru hava ile hiperventilasyon, hipertonic ve hipotonik aerosol inhalasyonu ve egzersiz gibi farmakolojik olmayan uyaranlarla da değerlendirilebilir (63). Sabah-akşam zirve ekspiratuvar akım değişkenliği hava yolu aşırı duyarlılığının göstergesi olabilir ve hava yolu aşırı duyarlılığının ölçümünde, astımın stabil olmadığını gösterilmesinde kullanılabilir

Hava yolundaki inflamasyonun belirteçleri bronş aşırı duyarlılığı ile korelasyon gösterir. İkinci olarak, astımın tedavisi ve solunum yolu inflamasyonu belirteçlerindeki düzelme semptomları azaltmakla kalmaz aynı zamanda solunum yolu aşırı duyarlılığını da azaltır. Bazı çalışmalar, anti-inflamatuvar tedavinin hava yolu aşırı duyarlılığını azaltmasına karşın, tam olarak ortadan kaldıramadığını göstermektedir. Az sayıda çalışma solunum yolu inflamasyonunun kontrol altına alınmasının, bronş aşırı duyarlılığını düzeltmediği sonucuna varmıştır(64). İnflamasyon dışında çeşitli faktörler solunum yolu aşırı duyarlılığına katkıda bulunuyor olabilir.

Hava akımı obstrüksiyonu: Hava akımı sınırlanması astımda tekrarlayıcıdır ve hava yollarındaki çeşitli değişikliklerden kaynaklanır. Bu değişiklikler şunlardır:

► Akut bronkokonstrüksiyon: Allerjenlerin indüklediği bronkokonstrüksiyon, doğrudan solunum yolu düz kas hücrelerinde kasılmaya neden olan. IgE aracılığıyla mast hücrelerinden açığa çıkan histamin, triptaz, lökotrien ve prostoglandin gibi aracı maddelere bağlıdır (65). Aspirin ve diğer nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar da aynı zamanda bazı hastalarda akut hava akımı obstrüksiyonuna neden olabilir, bu IgE bağımsız cevap aynı zamanda solunum yolu hücrelerinden de mediatörlerin salındığını ortaya çıkarmıştır (66). Egzersiz, soğuk hava, iritan maddelerin oluşturduğu uyaranlar akut hava akımı obstrüksiyonuna neden olabilir. Solunum yolu cevabını düzenleyen faktörler daha az anlaşılmıştır, ancak cevabın şiddeti altta yatan solunum yolu inflamasyonu ile ilgili gibi görünmektedir (67). Stresin akut astım atağını uyarabileceğine ilişkin deliller mevcuttur. Henüz mekanizması anlaşılamamıştır ve proinflamatuvar sitokinlerin etkisi olabilir (68)

► Solunum yolu ödemi: Solunum yolu ödemi, düz kas kasılması veya bronkokonstrüksiyon olmaksızın astımda hava akımını sınırlayabilir. Mediatörlerin salınımına bağlı artmış mikrovasküler geçirgenlik ve sızıntı solunum yollarında mukozal kalınlaşma ve şişmeye katkıda bulunabilir. Sonuçta solunum yolu duvarındaki şişme solunum yollarının daha katı olmasına neden olur ve hava akımını etkiler. (1)

► Kronik mukus plağı oluşumu: Ağır, kontrol altına alınamayan astımda hava akımı kısıtlılığı sürekli dir. Bu değışiklik kısmen mukus sekresyonu ve mukus plaklarının oluşumuyla artıyor olabilir.

► Solunum yolu yeniden yapılanması: Astımlı bazı hastalarda hava akımı kısıtlılığı, kısmen geri dönüşümlü olabilir. Bu komponentin etiyolojisi astımdaki diğer mekanizmalar kadar iyi çalışılmamıştır, fakat ağır ve uzun süreli solunum yolu inflamasyonuna eşlik edebilen solunum yolu matriksindeki yapısal değışikliklerle ilişkili olabilir. Bazı astımlı hastalarda solunum yollarındaki ekstrasellüler matriks miktarı ve dağılımındaki değışiklikleri gösteren histopatolojik bulgular vardır (69,70). Bu tamir ve yeniden yapılanma sürecinin düzenlenmesi tam olarak anlaşılammıştır, fakat her ikisi de sürekli hastalığı ve tedaviye cevabın kısıtlılığını açıklamakta anahtar süreç gibi görünmektedir.

Solunum yollarındaki inflamasyonda hücrelerin ve mediatörlerin rolü:

***I lenfositler:** Allerjik inflamasyonla ilişkili temel hücre, hücre yüzeyindeki major histokompatibilite kompleksi class II ile antijen sunan: makrofaj, B lenfosit ve dendritik hücreler gibi hücrelerden serbestleşen solubl peptidleri tarafından aktive edilen, CD₄ pozitif T lenfositlerdir. Farelerde CD₄ pozitif T lenfositler sitokin salınımındaki farklılıklara göre T_{h1} ve T_{h2} olarak iki farklı gruba ayrılır. İnsanlarda bu alt gurupların varlığı tartışmalıdır. Her iki alt gurup IL-3, GM-CSF ve TNF- α salgılar. T_{h2}'ye benzer hücreler IL-4, IL-5, IL-10 ve IL-13 üretir. Bu alt gurupların önemi IL-4 ve IL-5'in allerjideki öneminin keşfedilmesinden sonra anlaşılmmıştır. IL-4 ve IL-13 B hücrelerinden antikör class switching'ini ilerletir, IgE ve IgG₄ üretimini destekler ve olasılıkla otokrin feedback öncü T hücrelerinden T_{h2} tip hücre üretimini ilerletir. IL-5 eozinofillerin farklılaşmasını ilerletir ve apoptozlarını engelleyerek yaşam sürelerini artırır (71).

*** Mast hücreleri:** Mast hücreleri antijene spesifik IgE'nin hücre yüzeyindeki düşük ve yüksek afiniteli reseptörlere bağlanmasıyla aktive olur. Mast hücrelerinden histamin, bradikinin, lökotrien C, lökotrien D, lökotrien E, trombosit aktive edici faktör (PAF), prostoglandin E₂ (PGE₂), PGF_{2 α} , PGD₂ ve tromboksan gibi çok sayıda kimyasal mediatör salınır. Aynı zamanda, anafilaksinin nötrofil ve eozinofil kemotaktik faktörü ve lökotrien B₄ gibi çeşitli kemotaktik faktörler de salınır. Akciğer biopsi örnekleri ağır kronik astımdan

farklı olarak, hafif atopik astımda mast hücrelerinin daha önemli olduğunu destekler (71)

* Eozinofiller: Eozinofiller astımdaki doku hasarının oluşmasında anahtar hücrelerdir. Eozinofillerin aktivasyonu ve degranülasyonu, PAF, lökotrien B₄ gibi mediatörlerin direk uyarısı ile veya bu olmaksızın, IgE, IgG, IgA için yüzey reseptörlerinin aktivasyonu ile tetiklenir. Solunum yolu epiteli için toksik olduğu düşünülen eozinofil peroksid ve major basic proteini içeren dört temel protein ve lökotrien C₄, lökotrien D₄, PAF gibi eicosanoidleri içeren proinflamatuvar mediatörler salınır. Bu mediatörlerin salınımına ek olarak eozinofiller IL-1, IL-3, IL-5, IL-6, IL-8, GM-CSF, TGF- α ve TGF- β 'yi içeren bir dizi sitokin salgılar. GM-CSF'in hücrenin yaşam ömrünü uzatan etkileri olduğu gösterilmiştir. IL-5 spesifik olarak eozinofil prekürsörlerinin farklılaşması ve eozinofil yaşam ömrünü uzatmak gibi ikili bir etkiye sahiptir. Karşıt olarak, IL-3 ve GM-CSF birçok lenfosit serinin matürasyonunu ilerletmelerine ek olarak, eozinofil apoptozunu önler (71)

Astımlı hastaların hava yollarındaki mukozaya eozinofillerin toplanması hem yaşam ömürlerinin, hem de sekestrasyonlarının artmasına bağlıdır. Kemokinler bugün bilinen otuzdan fazla üyesi olan yeni bir sitokin ailesidir ve kemoatraktan etkiye sahiptir (72,73). Eotaxin ve IL-8 özellikle ilginçtir. Eotaxin özellikle invivo eozinofilleri çeker. IL-8 birçok lökosit tipi için kemoatraktan etkiye sahiptir (nötrofil, T hücreleri, makrofajlar, eozinofiller ve diğerleri), ek olarak nötrofillerin adezyon, degranülasyon ve mikrobisidal aktivitesini destekler. IL-5'in eozinofillerin PAF'a karşı lökomotor cevabını spesifik olarak artırdığının gösterilmesiyle, lökotien B₄ ve IL-8 eozinofillerin allerjik inflamasyondaki farklı dağılımını açıklama potansiyeli kazanmışlardır. IL-3 ve IL-5'in eozinofillerin adezyon moleküllerini artırarak kapiller endotelinde eozinofil marjinasyonunu sağladıkları gösterilmiştir. RANTES ve MCP-4 gibi bazı kemokinler eozinofiller için kemoatraktan etkiye sahiptir. PAF ve kalsiyum gibi diğer bazı moleküllerin kemoatraktan etkiye sahip oldukları tanımlanmıştır.

Birçok araştırma eozinofillerin hava yolunda apoptoza uğradığını göstermiştir ve bu süreç doku hasarı olmaksızın makrofajların eozinofilleri tanınmasına ve fagositozuna neden olur, ancak bunun için IL-3, IL-5 ve

GM-CSF'in apoptozu inhibe etmemesi gerekir(74). Zıt olarak, bu sitokinlerin varlığına karşın glukokortikoidler apoptozu indükler () Apoptozun indüksiyonu, astumdaki inflamasyonun çözülmesinde bu yüzden kritik bir yoldur (71)

* Makrofajlar aracılığıyla antijen sunumu: Makrofajlar; B hücreleri ve T_H hücreleri ile antikor üretiminde işbirliği yapar. Makrofajlar genellikle yabancı proteinlerle ilk karşılaşan hücrelerdir ve bazı maddeleri spesifik olmayan şekilde fagosite edebilirler. Takiben degradasyon ve T hücre reseptörleri yoluyla T_H hücrelerinin yüzeyindeki MHC II molekülleri ile birleşen 9-15 aminoasit uzunluktaki protein parçalarının oluşturduğu hücre içi süreç başlar. T_H hücrelerinin aktivasyonu sonucunda B hücrelerinden antikor üretimini artıran iki temel etki oluşur: B hücrelerinin CD40 reseptörleri yoluyla doğrudan ve T_H2 hücrelerinden IL-4 üretimini indükleyerek. B hücreleri antijen endositozunu sağlayacak moleküler kapasiteye sahiptir ve efektör hücelere MHC II aracılığıyla antijenik peptidleri sunar (71).

* B hücresi immunglobülin sınıf kayması: (switching) Antikor üretimi B lenfositlerde ve onun matür tipi plazma hücrelerinde olur. Antikor iki hafif zincir ve iki ağır zincirin disülfid bağlarıyla bağlanması ile oluşur. Antikorum iki fonksiyonel bölgesi vardır. Antijen bağlayıcı özellik oldukça değişken olan, hafif ve ağır zincirin NH_2 terminalinde vardır. $COOH$ terminali ağır zincirde efektör fonksiyonları ile tanımlanır. Hafif ve ağır zincirdeki değişken bölgeler antijen bağlanma yeri olarak biçimlenir (71)

İmmun sistem spesifik antikor üretiminde bitmek bilmez çeşitlilikte evrim geçirmektedir. Bu fenomenle ilgili, kabul edilen model klonal seleksiyon teorisidir; tek bir antijene özgü yüzey immunglobülinli B hücrelerinin değişmez şekilde üretildiği kabul edilir. İmmun sisteme yeni bir antijen girdiğinde ona özgü yüzey immunglobülinin sadece az bir kısmına bağlanır. Yüzey antikoruna antijenin bağlanması B hücrelerini üreten kaskadın uyarılmasını sağlar.

Hümmoral immün cevap yabancı antijenlere karşı özgül antikorların üretilmesiyle oluşur. B hücreleri aynı V(D)J bölgesine sahip farklı ağır zincir tiplerini ardışık olarak üretebilir. Ağır zincir kaymasının (switching) bu yeteneği antikorum antijen spesifitesinin korunmasına izin verir, ama efektör aktivitesini

değiştirir. Bu VDJ genine yeni ağır zincir genlerinin rekombinasyonunu sağlar, daha önce ortaya çıkan CH geni silinir.

Sınıf kayması ve IgE şekillenmesi lenfokinler ve T hücreleriyle etkileşim yoluyla regüle edilir. IL-4 bu olayda temel bir rol alır. İnsan ve koyun lenfositleri kullanılarak yapılan birçok çalışma IL-4'ün ϵ loküsüne doğru direk transkripsiyonda yeterli olduğunu bildirmektedir, ancak bu anlamlı IgE üretiminde efektif değildir (76). T hücre fonksiyonları çift etki kapasitelidir: direk rol, T hücre CD40'ın ligandı B hücre CD40 antijenine bağlanması yoluyla ikinci stimulus ve aynı zamanda IL-4'ün kaynağıdır (71).

Klinik Bulgular:

Astım atağının başlangıcı akut veya gizli olabilir. Akut ataklar sıklıkla soğuk hava, sigara dumanı gibi iritanlarla, allerjenlerle veya aspirin gibi kimyasal ajanlarla temas sonrası başlar. Viral solunum yolu enfeksiyonlarının tetiklediği atakların başlangıcı daha yavaştır, semptomların sıklığı ve şiddeti birkaç gün içerisinde artar. Akut astım atağının belirti ve bulguları başlangıçta produktif olmayan öksürük ve solunum seslerinde azalma şeklinde iken, giderek wheezing, takipne, dispne, siyanoz, göğüste aşırı havalanma, taşikardi ve pulsus paradoksus gelişir, ekspiryum uzar ve yardımcı solunum kasları kullanılmaya başlar. Hastada ciddi solunum zorluğu varsa wheezing kaybolur. Solunum sıkıntısı hastanın yürümesini ve konuşmasını engelleyecek düzeyde fazla olabilir. Oskültasyonda hafif ve orta derecede atakta bronşial raller duyulurken, ağır atakta ciddi obstrüksiyon nedeni ile sessiz göğüs saptanır. Genellikle kaba krepatasyonlar da duyulur. Özellikle küçük çocuklarda karın kaslarının ve diafragmanın solunuma katılması karın ağrısı ve kusmaya neden olabilir. Akciğerlerin aşırı havalanması nedeni ile karaciğer ve dalak palpe edilebilir. Ciddi ataklarda solunum işinin fazla olması nedeni ile terleme, hafif ateş, halsizlik görülebilir. Ataklar arasında hastalarda hiçbir belirti veya bulgu yoktur. Ciddi astımda fiçi göğsü deformitesi gelişebilir. Tekrarlayıcı ciddi retraksiyonlar olan hastalarda diafragmanın yapıştığı toraks bölgesindeki önden arkaya çökme Harrison çukurunun görülmesine neden olur. Çomak parmak gelişimi astımda çok nadirdir, ancak çok ağır vakalarda ve genellikle kor pulmonale gelişmiş çocuklarda görülür (77).

Tanı:

Birçok hastalıkta olduğu gibi detaylı öykü alınması astımın tanısında çok önemlidir (78) Çeşitli yaş grupları farklı tanı ve tedavi özellikleri gösterir. Hastaların %20'sinden fazlasında semptomlar ilk 1 yaş içerisinde ortaya çıkmakla birlikte, ortalama başlangıç yaşı 4'tür. Tekrarlayan öksürük, wheezing, solunum zorluğu ataklarının varlığı, semptomların gece yatağa yattıktan sonra artması astımı düşündürmelidir. Aile öyküsü, diğer allerjik hastalıkların varlığı, yaşadığı ortam hakkında ayrıntılı bilgi alınmalıdır (79). Özellikle egzersiz, viral enfeksiyon, inhale allerjenlerle tetiklenen veya artan tekrarlayıcı öksürük ve wheezing atakları astım tanısını kuvvetle destekler. Bununla birlikte, hava akımının wheezing oluşturamayacak kadar yetersiz olması, hava yolu obstrüksiyonunun nispeten hafif olması veya çocuğa bakan kişinin wheezingi tanıyamaması gibi nedenlerle, çocuklarda astım wheezing öyküsü olmaksızın sürekli öksürüğe neden olabilir. Akut atak sırasında semptomların bronkodilatatör tedavi ile düzeldiğinin muayene ile saptanması tanıya yardımcı olabilir (77). Daha önce tanı almış hastalarda özellikle uygulanan tedavi protokolleri, tetiği çeken faktörler, yüksek risk karakteristikleri (hastaneye başvuru ve yatış sayısının birden fazla olması, entübasyon, solunum yetmezliği öyküsü, sosyal faktörler gibi) üzerinde durulmalıdır(80)

Laboratuvar bulguları:

Astımda kanda ve balgamda eozinofili olabilir, kan eozinofil sayısı 250-400 hücre/mm³'ün üzerine çıkabilir. IgE düzeylerindeki artış dışında, serum protein ve immunglobülin düzeyleri genelde normaldir.

Allerjenlerle deri testi ve radioallergosorbent veya diğer in vitro yöntemlerle spesifik IgE'nin saptanması potansiyel çevresel allerjenleri ayırt etmekte kullanılabilir.

Bronşial uyarı testi, deri testi ile saptanan allerjenin klinik önemini saptamada nadiren kullanılır. Çünkü; allerjenle temas geç astmatik cevaba neden olabilir, zaman alıcıdır ve her defasında ancak bir allerjen test edilebilir.

Solunum fonksiyon testleri astım olduğu düşünülen çocukların değerlendirilmesinde kullanışlıdır. Solunum fonksiyon testinin bronkodilatatör tedavi öncesi ve sonrasında yapılması, test sırasında solunum yolu

obstrüksiyonunun geri dönüşümlülüğünü göstermekte oldukça değerlidir. Tedavi sonrası zirve akım hızı (PEFR) veya 1. saniyedeki zorlu ekspiratuvar volüm (FEV₁)'deki %10'luk artış astım tanısını kuvvetle destekler, ancak cevabın yetersiz olması tanıyı dışlatmaz. Remisyondaki hafif astımlı hastalarda hiçbir değişiklik saptanmayabilir. Total akciğer kapasitesi, fonksiyonel rezidüel kapasite ve rezidüel hacim artmıştır. Vital kapasite genellikle azalmıştır. Hava akımına ait dinamik testlerde; yani zorlu vital kapasite, FEV₁, PEFR, 25 ile 75. persantiller arası maksimum ekspiratuvar akım hızı (FEF_{25-75%}) 'nda düşük değerler saptanır.

Peak flowmetre ile zirve ekspiratuvar akım hızının günde iki veya üç kez ölçülmesi takipte yararlıdır. Zirve akım hızındaki düşme akut atağa işaret eder ve ilave tedavilerin eklenmesi ile atak önlenir. PEFR astımlı hastalarda sabah erken saatlerde genellikle düşük, akşam saatlerinde ise daha yüksek değerler saptanır. Aynı saatlerde tedavi almadan önce yapılan ölçümler diüurnal değişkenliği gösterebilir, bu değişkenliğin %30'un üzerinde olması bronş aşırı duyarlılığına ve solunum yollarındaki obstrüksiyonla birlikte astım kliniğinin kötüleştiğine işaret eder.

Akut astım atağı sırasında hastaneye yatırılarak tedavi edilmesi gerekli görülen hastalarda kan gazı ve pH değerlerinin saptanması gereklidir(77). Klinik olarak asemptomatik olan hastada PaO₂, PaCO₂ ve pH değerleri genellikle normaldir. Semptomatik hastalarda PaO₂ düşüktür ve bu düşüklük akut ataktan günler sonrasına kadar devam edebilir. Pulse oksimetre ile oksijen saturasyonunun ölçülmesi akut atağın şiddetini saptamakta yararlıdır. PaCO₂ akut astım atağının erken döneminde genellikle düşüktür. Obstrüksiyon arttıkça PaCO₂ yükselir. Obstrüksiyonun ve hipoksinin daha da ağırlaşması ile hiperkarbi ve laktik asidoza bağlı kombine solunumsal ve metabolik asidoz gelişebilir (81).

Hafif astımlı hastaların göğüs filmleri normal iken, hastalığın şiddeti arttıkça akciğerlerde havalanma artışı, diafragma düşleşmesi, ön-arka çap artışı, kostaların paralelleşmesi gözlenir. Kronik vakalarda ise bronş gölgeleri belirginleşir. Akut ataklarda hastaların %6'sında tipik olarak sağ orta lobda atelettaziler görülebilir. Göğüs filmi ağır vakalarda veya pnömoni, pnömotoraks, atelettazi gibi başka patolojilerden şüphe edildiğinde çekilmelidir (82).

Astım şiddetinin değerlendirilmesi:

Öykü, fizik muayene, laboratuvar bulguları, solunum fonksiyon testleri ve tedavi ihtiyacına göre astımlı hastalar; hafif aralıklı, hafif sürekli, orta sürekli ve ağır sürekli şeklinde sınıflandırılabilir. Bu sınıflandırma basamak tedavisinin tanımlanması için uygundur. (Tablo1)

- Hafif aralıklı astım: PEFR'de %20'den az düşmelerin olduğu, haftada iki veya daha az, değişken sıklıkta atak geçiren hastalardır; bronkodilatatör tedaviye 24-48 saat içinde yanıt verirler. Genellikle, hava yolu obstrüksiyonu bulunmadığında, 2 haftadan daha seyrek semptomları olan hafif astımlı çocuklarda ataklar arasında tedaviye gerek yoktur. Hafif astımlı çocukların okul devamlılığı iyidir, egzersiz toleransları yeterlidir, astım nedeniyle uykudan uyanma seyrek veya hiç olmaz. Göğüste aşırı havalanma yoktur, akciğer grafileri normaldir. Akciğer fonksiyon testleri akciğer kapasitesinde artış olmaksızın veya küçük bir artışla birlikte hafif, geri dönüşümlü hava yolu obstrüksiyonu gösterir.

- Hafif sürekli astım: Haftada ikiden daha sık olan, fakat hergün semptomu olmayan hastalar hafif sürekli astım olarak sınıflandırılır. Gece semptomları ayda ikiden daha fazla olabilir. PEFR veya FEV₁ asgari beklenen değerlerin %80'ine iner. PEFR'deki günlük değişkenlik %30'a kadar çıkabilir. Bu hastalar inhale kortikosteroidler daha etkili olmakla birlikte, genellikle kromolin veya nedokromil gibi düzenli anti-inflamatuvar tedaviye ihtiyaç duyarlar. Yavaş salımlı teofilin daha ucuz bir alternatiftir. Lökotrien antagonistlerinin oral kullanımı, hastanın yaşına bağlı olarak, diğer bir tedavi alternatifidir.

- Orta sürekli astım: Bu hastalar hafif astımlılardan daha sık semptomlara sahiptir, sıklıkla öksürük vardır ve daha ağır ataklar arasında hafif wheezing mevcuttur. Okul devamlılığında kayıp vardır, öksürük ve wheezing'e bağlı olarak egzersiz kapasitesi düşmüştür ve özellikle ataklar sırasında gece uykuları bozulabilir. Semptomların tatmin edici düzeyde kontrol altına alınabilmesi için birçok çocuk sürekli kromolin, nedokromil veya inhale kortikosteroid tedavisine ihtiyaç duyar. Akciğer grafisinde ve klinik olarak aşırı havalanma saptanabilir. FEV₁ veya PEFR normal değerlerin %60 ile %80'i arasında olabilir ve günlük PEFR değişkenliği %30'un üzerine çıkabilir.

* Tablo 1: Astım şiddetinin sınıflandırılması (1)

Tedavi öncesi klinik bulgular*				
	Semptomlar**	Gece semptomları	Solunum fonksiyonları	
Ağır Sürekli	Semptomlar aralıksız Fizik aktivitede kısıtlanma Sık atak geçirme	Sık	<ul style="list-style-type: none"> FEV₁ veya PEF beklenenin %60'ından az veya eşit PEF değişkenliği >%30 	
Orta Sürekli	Günlük semptomlar Günlük kısa etkili β ₂ agonist kullanımı Ataklar aktiviteyi etkiler Haftada iki veya daha fazla atak	Haftada 1'den fazla	<ul style="list-style-type: none"> FEV₁ veya PEF beklenen değere göre >%60 - <%80 PEF değişkenliği >%30 	
Hafif Sürekli	Günde 1'den az, haftada 2'den fazla semptom Ataklar aktiviteyi etkileyebilir.	Ayda 2'den fazla	<ul style="list-style-type: none"> FEV₁ veya PEF beklenen değerinin %80'ine eşit veya daha fazla PEF değişkenliği %20-30 arasında 	
Hafif aralıklı	Semptomlar haftada ikiden az Ataklar arasında asemptomatik ve PEFR normal Ataklar kısa süreli (birkaç saatten birkaç güne kadar), şiddeti değişken olabilir	Ayda 2 veya daha az	<ul style="list-style-type: none"> FEV₁ veya PEF beklenen değerinin %80'ine eşit veya daha fazla PEF değişkenliği <%20 	

* Klinik bulgulardan herhangi birinin varlığı hastayı o gruba dahil eder

** Hastalığın şiddeti ne olursa olsun hafif, orta ve ağır ataklar geçirebilirler

* Tablo 2: Akut astım atağı şiddetinin değerlendirilmesi: (1)

	Hafif	Orta	Ağır
Solunumsal yetersizlik	Yürürken vardır. Yatabilir.	Konuşurken vardır. Oturmayı tercih eder.	İstirahatte iken vardır. Dik oturur.
Konuşma	Cümlelerle	Kısa cümlelerle	Kelimelerle
Uyaranlara karşı	Ajite olabilir.	Genellikle ajitedir.	Genellikle ajitedir.
Solunum sayısı	Artmıştır	Artmıştır	30/dk üzerindedir.
Yardımcı solunum kasları	Kullanılmaz	Sıklıkla kullanılır.	Genellikle kullanılır.
Wheezing	Orta düzeyde, sıklıkla ekspiryum sonunda	Gürültülü, ekspiryum boyunca	Genellikle gürültülü, inspiryum ve ekspiryum boyunca
Kalp atım hızı	100/dk altında	100-120/dk	120/dk üzerinde
Pulsus paradoksus	Görülmez. (10 mm-Hg altında)	Olabilir. (10-25 mm-Hg)	Sıklıkla vardır. (20-40 mm-Hg)
PEF (Kişisel değer)	%80'inin üstünde	%50-80	%50'nin altında
PaO ₂	Normal	>60 mm/Hg	<60 mm/Hg siyanoz olabilir
PaCO ₂	<42 mm/Hg	<42 mm/Hg	>42 mm/Hg
SaO ₂	>%95	%91-95	<%91

* Şuurun konfüze olması, paradoksal solunum, wheezingin olmaması, bradikardi varlığı solunumsal yetersizliğe işaret eden bulgular olabilir.

• **Ağır sürekli astım:** Bu hastaların hemen hergün wheezing'i vardır, daha sık ve ağır ataklar geçirirler; hafif ve orta astımlı hastalarda nadiren gerekli olan, tekrarlayan hastaneye yatırılma gereksinimleri vardır. Anlamli derecede okul devamsızlığı, astıma bağlı uykuda bozulma vardır, egzersiz toleransları düşüktür. Akciğer grafiğinde kronik hiperinflasyona bağlı ön - arka çapta artış mevcuttur.

Sürekli anti-inflamatuvar tedavi gereklidir, tedavi şeması düzenli kortikosteroid içermelidir ve gerektiğinde sistemik steroid tedavisi eklenebilir Akciğer fonksiyon testleri hafif ve orta astımdakinden daha ağır hava yolu obstrüksiyonu gösterir, FEV₁ ve PEFR beklenen normal değerlerin %60'ından düşük olabilir ve inhale bronkodilatatör tedaviye cevap daha azdır (77).

TRANSFORMİNG GROWTH FAKTÖR BETA (TGF-β)

TGF-β dimerik polipeptid growth faktörler ailesinden kemik morfojenik protein ve aktivinlerin bir üyesidir. Bu growth faktörlerin tümü, korunmuş sistein gruplarından oluşan rezidüel içerir ve molekül içindeki disülfid bağlarıyla düğüm şeklinde bir yapı oluşturur(83) Gerçekten vücuttaki birçok hücre; epitel, endotel, hematopoetik, sinir ve bağdokusu hücreleri TGF-β üretir ve reseptörleri de aynı hücrelerde bulunur. Hücrelerin proliferasyon ve farklılaşmasını, embriyonik gelişimi, yara iyileşmesini ve anjiogenezi düzenler. TGF-β'yı kodlayan gendeki, reseptörlerindeki mutasyonlar ve intrasellüler sinyal molekülleri hastalıkların patofizyolojisi ile ilişkilidir.

TGF-β sinyali:

TGF-β'nin üç izoformu vardır (TGF-β₁, TGF-β₂, TGF-β₃) Tüm izoformlar farklı genler tarafından kodlanır ve farklı spesifik dokularda salınır. farklı gelişimsel düzenlemeler yapar. Tüm izoformların memelilerde oldukça korunmuş olması, oldukça kritik biyolojik fonksiyonları olduğunu destekler. Tüm TGF-β molekülleri propeptid bölge içeren büyük bir prekürsör molekül olarak sentez edilir. Prekürsör hücreden salınmadan önce, TGF-β propeptidden ayrılır, ancak non-kovalent bağlarla yine bağlı kalır. Salındıktan sonra TGF-β ekstrasellüler matrikste propeptid ve latent TGF-β bağlayıcı protein ile kompleks halinde bulunur ve bu durum reseptörlerine bağlanmasını önler.

TGF-β üç yüksek afiniteli hücre yüzeyi reseptörü (tip 1,2,3) aracılığıyla hücresel olayları düzenler. Tip 3 reseptörler en çok bulunan tiptir. Fonksiyonu TGF-β'ya bağlanmaktır ve sinyali tip 1 ve tip 2 reseptörlere iletir. Tip 1 ve tip 2 reseptörler intrasellüler yüzlerinde serin – treonin protein kinaz içerirler ve bu SMADS (Caenorhabditis Elegans ve Drosophila Melanogaster'de Sma ve MAD

homolog genlerinden elde edilen) olarak bilinen birçok transkripsiyon faktörünün fosforilasyonu ile intrasellüler sinyali başlatır. Günümüze kadar 10 SMADS proteini ayırt edilmiştir. Smad-2 ve Smad-3 aktive olmuş tip 1 TGF- β reseptörlerince fosforillenir Smad 4 reseptörler tarafından aktive edilen tüm Smad proteinleri için ortak bir yolda yer alır Smad 6 ve 7, Smad 2 ve 3'ün fosforilasyonunu önleyerek TGF- β sinyalini durdurur(84).

TGF- β önce tip 3 reseptörlere bağlanıp sonrasında tip 2 reseptörleri aktive edebilir, yada doğrudan tip 2 reseptörlere bağlanabilir TGF- β tarafından birkez aktive edildiğinde tip 2 reseptörler çoğalı, yeniden bağlanır ve tip1 reseptörleri fosforilleyerek onların proteinkinaz aktivitesini uyarır. Aktive olan tip 1 reseptörler Smad 2 ve 3'ü fosforile eder ve bu proteinler Smad 4'e bağlanır Oluşan Smad kompleksi nükleusa taşınır ve burada birçok genin transkripsiyonunu etkileyen, hücelere özel transkripsiyon faktörleri ile etkileşir (85,86) "

TGF- β ; immüitedeki temel rolü anti-inflamatuvar olmakla birlikte proinflamatuvar etkiler de gösterebilen bir sitokindir. Birbiriyle yakın ilişkili olan TGF- β 1, 2 ve 3'ü temsil etmektedir (8) Antijen sunan hücrelerin fonksiyonlarını düzenleyerek ve makrofajları deaktive ederek, indirek olarak I hücre aktivasyonunu inhibe eder(8,9) İnsan akciğerlerinde eksprese olduğu gösterilmiştir(10,11) TGF- β knock out farelerin akciğerleri de içeren birçok organda, diffüz mononükleer hücre infiltrasyonu nedeniyle öldükleri gözlenmiştir (12). TGF- β 'nın mast hücre proliferasyonunu ve IgE sentezini önleyerek allerjik inflamasyon gelişimini baskıladığı gösterilmiştir. Ayrıca TGF- β , eozinofillerin yaşam süresini uzatan hematopoetinlerin etkilerini önleyerek apoptozlarını uyarır(13) Anti-inflamatuvar etkilerine işaret eden bu gözlemlere karşıt olarak, allerjik rinit ve nazal polipozisi olan hastaların burun mukozalarından alınan eozinofillerin, artmış TGF- β gen ekspresyonu gösterdikleri saptanmıştır(14) Allerjik bir hastalık geliştikten sonra TGF- β sekresyonu, uzun süreli astımlılardaki irreversibl değişikliklerin ve fibrozisin gelişimine katkıda bulunabilir(10)

Havayolu yeniden yapılanmasında en temel olay ağır astımlı hastalarda görülen subepitelyal fibrozistir(87). TGF- β 1 kollagen ve fibronektin gibi

ekstrasellüler matriks proteinlerinin depolanmasını içeren, fibrozisin çeşitli süreçleri ile ilişkilidir (88,89,90). Eozinofillerdeki IGF- β 1 mRNA düzeyleri ağır astımlı hastalarda, hafif astımlı hastalara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur(87,91). Hobbs ve arkadaşları astım ve allerjik rinit tanısı bulunan ailelerde yaptıkları çalışmada; IGF- β 1 C509T polimorfizminin yüksek IgE düzeyleri ile ilişkili olduğunu saptamışlar, ancak bu hastalar IL-10 -509 pozisyonunda da polimorfik oldukları için IgE yüksekliğine tek başına bu polimorfizmin neden olup olmadığını ayırt edememişlerdir(7). L.J. Pulleyn ve arkadaşları(19); C509T polimorfizminin astım şiddetine katkıda bulunduğunu, G915C polimorfizminin astımlı hastalarla kontrol grubu arasında anlamlı farklılık göstermediğini rapor etmişlerdir. El Gamel ve arkadaşları(17) codon 25 polimorfizminin arginin homozigot olan hastalarda, akciğer allogreft fibrozisi ile ilişkili olduğunu ve aynı zamanda artmış in vitro IGF- β 1 üretimiyle anlamlı ilişki gösterdiğini " bildirmişlerdir. Arkwright ve arkadaşları(16); G915C polimorfizminin atopik dermatit riskini anlamlı derecede artırdığını rapor etmişlerdir. Yukarıda açıklanan bilgiler ışığında, IGF- β 1 astım şiddetiyle ilişkiyi araştırmak için ümit verici bir aday genidir.

Olgular ve Metod:

Olgular: Kliniğimizde astım bronşiale tanısı alan 97 hastanın. IGF- β 1 geninde. +915 polimorfik bölgesindeki genotipleri tespit edildi. Hastalar tablo 1'deki kriterlere uygun olarak; hafif aralıklı, hafif sürekli, orta sürekli ve ağır sürekli astım şeklinde gruplandırıldı. Çalışmaya alınan hastalarda; yaş, astım şiddeti, süresi, allerjik rinit ve atopik dermatit varlığı, ailede atopik birey sayısı sorgulandı. Tanı ve takip süresince tespit edilmiş olan serum IgE ve IgA düzeyleri, eozinofil sayısı, deri testi sonuçları, inhale steroid tedavisi alıp almadıkları kaydedildi. Bu çalışma nedeniyle, hastalardan DNA ayrılması amacıyla EDTA'lı tüpe kan alınması dışında yeni laboratuvar tetkiki istenmedi.

Ayrıca, bilinen atopik hastalığı olmayan sağlıklı erişkin hastalardan, bilgi verilerek izinleri alınmak suretiyle kan örneği alınarak, Türk popülasyonunda bu polimorfizmin genotipik oranlarını tespit etmek üzere kontrol grubu oluşturuldu.

Metod:

DNA izolasyonu: Hastalardan ve kontrol grubundan EDIA'lı tüpe 2 cc venöz kan örneği alındı. DNA izolasyonu; K0512 FERMENTAS DNA Ekstraktion Kit (Genomik DNA Purification Kit) 'inin öngördüğü aşağıdaki prosedür uygulanarak yapıldı:

- a) 100 mikrolitre kan + 1 ml Lizis buffer (8 dk oda ısısında inkübasyon)
- b) 1 dk , oda ısısı, 10.000 veya 12.000 r.p.m. şartlarında santrifüj
- c) Süpernatant aspirasyonu
- d) + 0,1 ml lizis buffer
- e) Yüksek devirde 10 dk vortex işlemi
- f) 1 dk , oda ısısı, 10 000 veya 12 000 r.p.m santrifüj
- g) Süpernatant aspirasyonu
- h) + 0 2 ml insta gene matrix
- i) 8 dk. 70 °C'de inkubasyon
- j) Yüksek devirde 10 dk vortex işlemi
- k) 4 dk. 95 °C'de inkübasyon
- l) Yüksek devirde 10 dk vortex işlemi
- m) 1 dk , oda ısısı, 10.000 veya 12 000 r.p.m şartlarında santrifüj
- n) Süpernatant PCR için kullanıldı.

Elde edilen DNA örneklerinde, TGF- β 1 geninde G915C polimorfizmi, amplify refractory mutation system (ARMS) tekniği kullanılarak araştırıldı(92). PCR reaksiyonu 23.8 μ L dH₂O, 10X Taq buffer, 3 μ L MgCl₂, 4 μ L dNTP, 2 μ L Primer I, 2 μ L Primer II, 2 μ L Primer III, 0 2 μ L Taq Polymeraz ve 10 μ L DNA kullanılarak gerçekleştirildi.

2 sense ve 1 anti-sense primer kullanıldı. Primerlerin dizaynı;

sense primer I : 5-ACTGGIGCTGACGCCTGGCCC-3,

sense primer II : 5-ACTGGIGCTGACGCCTGGCCG-3 ve

anti-sense primer : 5-TGCTGTGTGACAGGGGAGCA-3'dür. Örnekler,

96 °C'de 5 dk. denatürasyon, bunu takiben 96 °C 1 dk , 60 °C 30 sn. ve 73 °C 1dk. için 34 döngü ile hibridizasyon ve 73 °C 2 dk. son extansiyon termal-cycler ile çoğaltıldı. % 2'lik etidium bromür içeren agaroz jel elektroforezinde ayrılan ürünler gözlemlendi.

Sadece Primer I'de bir amplifikasyon varsa; C/C, sadece Primer II'de bir amplifikasyon varsa; G/G, hem Primer I hemde Primer II'de amplifikasyon varsa; G/C heterozigot olduğu bildirildi. (Şekil 1)

İstatistiksel Analiz: İstatistik analiz için SPSS 10.0 yazılımı kullanıldı. Numerik verilerin normal dağılıma uygunluğunu test etmek için Shapiro –Wilk testi kullanıldı. Numerik veriler Mann-Whitney U, nominal veriler Chi-Square (Ki kare) testi ile karşılaştırıldı.

SONUÇLAR:

Çalışmaya alınan astımlı çocukların yaşları, 4 ile 17 yıl (ortalama 9.49 ± 3.26 yıl) arasındaydı. Kontrol grubu 20 yaşın üzerinde bilinen atopik veya immünolojik hastalığı olmayan erişkin bireylerden oluşturuldu. Hasta grubu; 34 kız (%35.1) ve 63 erkek (%64.9), toplam 97 kişi idi. Çalışma öncesinde yapılan değerlendirmelerine ulaşılan 91 hastadan; 37 (%40.7)'si hafif aralıklı, 49 (%53.8)'u hafif süregen, 4 (%4.4)'ü orta süregen, 1 (%1.1)'i ağır süregen astımlıydı. 58 (%63.7) hastada allerjik rinit, 8 (%8.8) hastada atopik dermatit vardı. Ailede atopi öyküsü sorgulandığında; hastaların 14 (%15.4)'ünün annesinde, 24 (%26.4)'ünün babasında, 11 (%12.1)'inin kardeşinde atopik hastalık tespit edildi. IgE düzeyleri; ölçülen 54 hastadan 29 (%53.7)'unda (kızlarda >170 IU/ml, erkeklerde >230 IU/ml), eozinofil sayısı; değerlendirilen 78 hastadan 39 (%50)'unda yüksek ($>400/mm^3$) bulundu. Allerjenlerle deri testi yapılmış olan 87 hastanın 62 (%71.3)'sinde akar duyarlılığı vardı.

Çalışmaya alınan 97 hastanın, TGF- β 1 G915C polimorfizmi için genotipleri incelendiğinde; hastalardan 2 (%2.07)'si C/C homozigot, 10 (%10.30)'u C/G heterozigot ve 85 (%87.63)'i G/G homozigot bulundu.

C/C homozigot ve C/G heterozigot olan grup 1 ve G/G heterozigot olan grup 2'deki hastalarda; cinsiyet, astımın şiddeti, allerjik rinit, atopik dermatit ve ailede atopi varlığı, eozinofil sayısı, IgE, IgA düzeyleri, deri testi sonuçları, inhale steroid alıp almadıkları ve dozu karşılaştırıldı.

Grup1'de; 9(%75)'i erkek, 3(%25)'ü kız toplam 12 hasta, grup 2 de 54(%63.5)'i erkek, 31(%36,5)'si kız toplam 85 hasta vardı. Gruplar arasında

cinsiyet dağılımında anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0.532$) Grup 1'deki hastalardan 5'i hafif aralıklı, 7'si hafif süregen astımlıydı. Grup 1'de orta ve ağır süregen astımlı hasta yoktu. Grup 2'deki hastaların 32'si hafif aralıklı, 42'si hafif süregen, 4'ü orta süregen, 1'i ağır süregen astımlıydı. 6 hastanın önceki değerlendirmelerine ulaşamadı. Gruplar arasında astım şiddeti karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı ($p=0.760$) Grup 1'de 10 hastada, grup 2'de 48 hastada alerjik rinit vardı. Grup 1'deki hastaların birinde, grup 2'deki hastaların 7'sinde atopik dermatit saptandı. Her iki grup arasında alerjik rinit ve atopik dermatit varlığı arasında anlamlı fark saptanmadı (sırasıyla $p=0.199$ ve 1.000) Her iki grupta birinci derece akrabalarda atopik hastalık varlığı karşılaştırıldığında istatistiksel fark yoktu ($p=0.799$) Eozinofil düzeylerine bakılmış olan grup 1'deki 8 hastanın 5 (%62.5)'inde, grup 2'deki 70 hastanın 34 (%48.5)'ünde eozinofili (eozinofil sayısı $400/\text{mm}^3$ 'ün üstünde) bulundu. Grup 1 ve grup 2'de eozinofili varlığı karşılaştırıldığında $p=0.711$ idi. IgE yüksekliği grup 1'de, düzeyi ölçülmüş olan 6 hastanın 3 (%50)'ünde, grup 2'deki 48 hastanın 26'sında vardı. Gruplar arasında IgE yüksekliği arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmadı ($p=1.000$) Serum düzeyi bakılan hasta sayısının az olmasından dolayı IgA düzeyleri karşılaştırılmadı. Hastaların deri testlerinde grup 1'deki 10 hastadan 8 (%80)'inde, grup 2'deki 77 hastadan 54 (%70)'ünde akarlar karşı atopi saptandı. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0.717$). Diğer allerjenlere duyarlılık açısından da her iki grup arasında fark yoktu ($p=0.710$) İnhalasyon steroid tedavisi alma gereksinimlerine göre karşılaştırıldığında, iki grup arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0.309$)

Kontrol grubundaki hastaların TGF- $\beta 1$ G915C polimorfik noktasındaki genotipleri incelendiğinde; 3 (%2.8) olgunun C/C homozigot, 11 (%10.5) olgunun C/G heterozigot, 91 (%86.7) olgunun G/G homozigot olduğu tespit edildi. Astımlı hastalarla kontrol grubunun genotipleri karşılaştırıldığında, her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=1.000$)

***Tablo-3 : Astımlı hastalar ve kontrol grubunun genotipleri.**

	Grup 1	Grup 2		P
	G/G (%)	C/C (%)	G/C (%)	
ASTİM (n=97)	85 (87.6)	2 (2.1)	10 (10.3)	1.000
KONTROL (n=105)	91 (86.7)	3 (2.8)	11 (10.5)	

***Şekil"1:** Sırasıyla C/C homozigot, C/G heterozigot, G/G homozigot olan ve PCR reaksiyonunun başarısız olduğu elektroforez bantları.



***Tablo 4:** Atopik dermatitli ve allerjik rinitli hastaların genotipleri

	C/C veya C/G N= 12	G/G N=79	P
Allerjik Rinit N=58 (%)	10 (83.3)	48 (60.7)	0.199
Atopik Dermatit N= 8 (%)	1 (8.3)	7 (8.8)	1.000

***Tablo 5:** Astımlı hastaların genotipleri ile klinik ve laboratuvar verilerinin karşılaştırması

		C/C veya CG	G/G	P
ASTIM ŞİDDETI n=91 (%)	HAFİF ARALIKLI	5	32	0.760
	HAFİF SÜREGEN	7	42	
	ORTA SÜREGEN	0	4	
	AĞIR SÜREGEN	0	1	
AILEDE ATOPI ÖYKÜSÜ n=91(%)	VAR (n=37)	6 (50.0)	31 (34.0)	0.799
	YOK (n=54)	6 (50.0)	48 (66.0)	
EOZİNOFİLİ n=78 (%)	VAR (n=39)	5 (62.5)	34 (48.6)	0.711
	YOK (n=39)	3 (37.5)	36 (51.4)	
İgE YÜKSEKLİĞİ n=54 (%)	VAR (n=29)	3 (50.0)	26 (54.2)	1.000
	YOK (n=25)	3 (50.0)	22 (45.8)	
AKAR DUYARLILIĞI n=87(%)	VAR (n=62)	8 (80.0)	54 (70.1)	0.717
	YOK (n=25)	2 (20.0)	23 (29.9)	
STEROID TEDAVİSİ n=75 (%)	ALİYOR (n=48)	9 (81.8)	39 (60.9)	0.309
	ALMIYOR (n=27)	2 (18.2)	25 (39.1)	

Tartışma:

Bu çalışmada IGF- β 1 G915C polimorfizminin astım gelişme riski ve astımın fenotipik belirteçleri ile ilişkisi araştırılmıştır. Türk popülasyonunda bu polimorfizmin allel sıklığı daha önce çalışılmamıştır. Kontrol grubunun genotipleri incelendiğinde; C/C homozigot allel yüzdesi %28, C/G heterozigot allel yüzdesi %10.5, G/G homozigot allel yüzdesi %86.7 olarak saptanmıştır (C allel frekansı %8, G allel frekansı %92). Allel yüzdesi; İngiliz popülasyonunda Arkwright ve arkadaşları(93)'nin yaptığı çalışmada kontrol grubunda, G/G için %81, G/C için %19, C/C için %1 ve Cotton ve arkadaşları(18)'nin yaptığı çalışmada G/G için %84.2, G/C için %14.6, C/C için %1.2 bulunmuştur. Cambien ve arkadaşları(15)'nin Fransa'da yaptığı çalışmada; G/G için %86.8, G/C için %12.9, C/C için %0.3'dır. Li ve arkadaşları(16)'nin Amerika'da yaptığı çalışmada C allel frekansı %14, G allel frekansı %86 bulunmuş. Bu sonuçları Türk popülasyonunda IGF- β 1 G915C polimorfizminin, Avrupa ve Amerika popülasyonlarıyla benzer allel dağılımı olduğunu göstermektedir.

IGF- β 1 G915C polimorfik bölgesinde, sitozin içeren kodon prolin kodları ve düşük IGF- β 1 üretimi ile ilişkilidir. IGF- β 1'in proinflatuvar ve fibrozisi uyaran etkileri göz önünde bulundurulduğunda C allelinin varlığının astım gelişimi ve progresyondaki ilerlemeyi önleyici rol oynaması beklenir. Karşıt olarak; anti-inflatuvar etkileri dikkate alınırsa, bu alleli taşıyan hastaların klinik seyirlerinin daha ağır ve kronikleşmeye eğilimli olması gerekir. Ancak; diğer sitokinler ve genotipik farklılıklar bu etkilerin ortaya çıkmasında değişikliklere neden olabilir. Bu çalışmada astımlı hastaların genotipleri, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında astım gelişimi için anlamlı risk artışı gözlenmemiştir ($p>0,05$). Çalışma grubunda astımın şiddeti ile IGF- β 1 genotipleri karşılaştırıldığında; G915C polimorfizminin astımın şiddetindeki artışla ilişkisi saptanmamıştır ($p>0,05$). Bu sonuçları, Pulleyn ve arkadaşları(19)'nin yaptıkları çalışmanın sonuçlarıyla uyumludur. Farklı allellere sahip gruplar arasında atopik dermatit ve allerjik rinit sıklığı açısından fark yoktu. Arkwright ve arkadaşları(20); G915C polimorfizminin atopik dermatit riskini anlamlı derecede artırdığını rapor

etmişlerdir Çalışmamızda; atopik dermatitli hastaların sayısı az olmakla birlikte, bu ilişkiyi saptayamadık.

Çocukluk döneminde astım büyük oranda egzojen faktörlere bağlıdır ve adölesan dönemde hastaların bir kısmında klinik düzelme olması beklenir Çalışma grubundaki hastaların klinik seyirlerinin izlenmesi planlanmıştır ve progresyon gösterenlerin genotiplerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması, bu polimorfizmin astım patojenezi ile ilişkisini ortaya koyacaktır

G/G homozigot hastalardan oluşan grup 1 ile C/C homozigot ve C/G heterozigot hastalardan oluşan grup 2 arasında, astımın fenotipik belirteçleri olan; eozinofili, IgE yüksekliği, deri testinde akar ve diğer allerjenlere karşı duyarlılık, inhale steroid kullanma gereksinimi bakımından anlamlı fark bulunmamıştır (tüm parametreler için $p>0.05$)

Hastalarımızın büyük çoğunluğu hafif aralıklı ve hafif süregen astımlıydı Oysa ki TGF- β 1 fibrozis üzerine bilinen etkilerinden dolayı, kronik süregen astımlı hastalardaki subepitelyal fibrozis ve remodelizasyon üzerine etkili olması beklenen bir sitokindir Çalışma grubunda sadece 2 olguda C/C homozigotluğu saptanmış olması, bu genotiple ilgili istatistiklerin gücünü azaltmıştır. Orta ve ağır astımlı hastaların çalışılması sonuçlarda anlamlı değişikliklere neden olabilir Hücrel mekanizmalar ve temel genetiğe dayalı çalışmalar astım patogenezi ve etiolojisini anlamamızı sağlayacaktır. Özellikle astım insidansındaki artışın nedeni ve bazı olgularda çevresel faktörlerin tetikleyici olup, diğerlerini neden etkilemediği cevaplanması gereken sorulardır Polimorfik bölgelerin ve klinik önemlerinin saptanması, astım gelişme riski olanların saptanmasına ve hastalığı önleyici daha kesin stratejilerin belirlenmesine yardımcı olabilir. Aynı zamanda, polimorfizmlerin kalıtımı klinik seyir, hastalığın şiddeti, tedaviye cevabı hakkında yol gösterebilir.

Özet:

TGF- β ; immüitedeki temel rolü anti-inflamatuvar olmakla birlikte proinflamatuvar etkiler de gösterebilen bir sitokindir. Birbiriyle yakın ilişkili olan TGF- β 1, 2 ve 3'ü temsil etmektedir (8). Antijen sunan hücrelerin fonksiyonlarını düzenleyerek ve makrofajları deaktive ederek, indirek olarak T hücre aktivasyonunu inhibe eder(8,9). İnsan akciğerlerinde eksprese olduğu gösterilmiştir(10,11). TGF- β 'nin mast hücre proliferasyonunu ve IgE sentezini önleyerek allerjik inflamasyon gelişimini baskıladığı gösterilmiştir. Ayrıca TGF- β , eozinofillerin yaşam süresini uzatan hematopoetinlerin etkilerini önleyerek apoptozlarını uyarır(13). Anti-inflamatuvar etkilerine işaret eden bu gözlemlere karşıt olarak, allerjik rinit ve nazal polipozisi olan hastaların burun mukozalarından alınan eozinofillerin, artmış TGF- β gen ekspresyonu gösterdikleri saptanmıştır(14). Allerjik bir hastalık geliştikten sonra TGF- β sekresyonu, uzun süreli astımlılardaki irreversibl değişikliklerin ve fibrozisin gelişimine katkıda bulunabilir(10). TGF- β 1 genindeki G915C polimorfizminin, bu sitokinin in vitro üretimindeki farklılıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir (16,17). Arkwright ve arkadaşları(20); G915C polimorfizminin atopik dermatit riskini anlamlı derecede artırdığını rapor etmişlerdir. Bu yüzden TGF- β 1 astım şiddeti için ümit verici bir aday genidir.

Bu çalışmada; 'Bronşial astımlı hastalarda, TGF- β 1 G915C polimorfizmi, bilinen atopik hastalığı olmayan sağlıklı kontrollerden farklıdır' hipotezi araştırılmıştır.

Sonuçta Türk popülasyonunda daha önce çalışılmamış olan bu polimorfizmin allel frekansları, Avrupa ve Amerika popülasyonlarındakine benzer bulunmuştur. Astımlı hastalar ile kontrol grubu karşılaştırıldığında allel frekanslarının farklı olmadığı; bu polimorfik bölgede farklı nükleotide sahip bireyler arasında astım şiddeti, aile öyküsü, eozinofili, IgE düzeyleri, allerjenlerle deri testi sonuçları gibi astımın fenotipik belirteçleri açısından fark bulunamamıştır. Bu polimorfizmin astımlı hastalardaki klinik seyir üzerine etkilerini gösterebilmek amacıyla, progresyon gösteren hastaların genotiplerinin kontrol grubuyla karşılaştırılması planlanmıştır.

Kaynaklar:

1. National Asthma Education Program, National Heart, Lung, and Blood Institute, Expert Panel Report: Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma (NIH pub no 97-4051). Bethesda, MD, U.S Department of Health and Human Services, 1997
2. Blumenthal MN: The immune system and inflammation – epidemiology of allergy In Kaplan AP, editor: Allergy, ed 2, Philadelphia, 1997 WB Saunders, pp 407-420.
3. Ewans R: Epidemiology and natural history of asthma, allergic rhinitis and atopic dermatitis (eczema). In Middleton E, Reed CE, Ellis EF, et al. editors: Allergy: principles and practice, ed 4, St Louis, 1993, Mosby, pp 1109-1136
4. Stanford A, Weir R, Pare P: The genetics of asthma, *Am J Respir Crit Care Med* 153: 1749-1765, 1996.
5. Weiss K, Gergen P: The epidemiology of asthma : risk factors, rates and trends In Blumenthal MN, Björkstén B, editors: Approaches to the study of the genetics of allergy and asthma, New York, 1997, Marcel Dekker, pp 137-170
6. Akar N Klinik Moleküler Patolojiye Giriş Ankara Üniversitesi Basımevi 1999 s:174-225
7. Hobbs K, Negri J, Klinnert M, Rosenwasser LJ, Borish L. Interleukin-10 and transforming growth factor-beta promoter polymorphism in allergies and asthma *Am J Respir Crit Care med* 1998; 158:1958-62.
8. McCartney-Francis, N.L., and S. Wahl 1995. Transforming growth factor-beta : a matter of life and death. *J. Leuk. Biol* 55:401-409
9. Tsunawaki, S., M. Sporn, A. Ding, and C. Nathan. 1998 Deactivation of macrophages by transforming growth factor- β *Nature* 334:260-262
10. Aubert, J.-D., B.I. Dalal, T.R. Bai, C.R. Roberts, S. Hayashi, and J.C. Hogg 1994. Transforming growth factor β 1 gene expression in human airways *Thorax* 49: 225-232
11. Toossi, Z. 1996. Decreased production of TGF β -1 by human alveolar macrophages as compared with blood monocytes. *J Immunol* 156:3461-3468.

12. Shull, M. M., I Orrmsby, A Kier, S Pawlowski, R. J Diebold, M Yin, R Allen, C Sidman, G Proetzel, and D. Calvin. 1992 Targetted disruption of the mouse transforming growth factor- β 1 gene results in multifocal inflammatory disease. *Nature* 359:693-699
13. Alam, R. 1994 Transforming growth factor β abrogates the effects of hematopoietins on eosinophils and induces their apoptosis. *J Exp Med* 179:1041-1045
14. Ohno, I, R G Lea, K. C Flanders, D. A Clark, D Banwatt, J Dolowich, J Denburg, C. B Harley, J Gauldie, and M Jordana 1992. Eosinophils in chronically inflamed human upper airway tissues express transforming growth factor β 1 gene *J Clin Invest* 89:1662-1668.
- 15 Cambien F, Ricard S, Troesch A, et al Polymorphisms of TGF- β 1 gene in relation to myocardial infarction and blood pressure *Hypertension* 1996;28: 881-887 "
16. Li B, Khanna A, Sharma V, Singh I, Suthanthiran M, August P. TGF- β 1 DNA Polymorphisms, Protein Levels, and Blood Pressure *Hypertension* 1999;33[part II]:271-275.
- 17 El-Gamel A, Awad M, Sim E, et al. TGF- β 1 and lung allograft fibrosis *European Journal of Cardio-thoracic Surgery* 1998;13:424-430
- 18 Cotton SA, Gbadegesin RA, Williams S, et al Role of TGF- β 1 in renal parenchymal scarring following Childhood urinary tract infection *Kidney International* 2002;61:61-67
- 19 Pulleyn L.J, Newton R, Adcock I.M, Barnes P.J. *Hum Henet* 2001;109:623-627
- 20 Aikwright PD, Chase MJ, Babbage S, et al Atopic dermatitis is associated with a low-producer TGF- β 1 cytokine genotype *J Allergy Clin Immunol* 2001;108:281-4
21. Muro S, Minshall M E, Hamid Q.A. The pathobiology of asthma: Implications for treatment *Clinics in Chest Medicine* 2000;21; number 2
22. Uğuz A, Antalya bölgesinde ilkokul çağında allerjik hastalıkların prevalansı IX. Ulusal All. ve Klin İmm Kong -2000

23. Saraçlar Y, Yiğit Ş, Adalıoğlu G, Turner A, Tunçbilek A; Ankara'da ilkokul çocuklarında allerjik hastalıkların prevalansı Çocuk sağlığı ve hastalıkları dergisi 37:215, 1994
24. Küçüködük Ş, Aydın M, Çetinkaya F, Dinç H, Gürses N, Saraçlar Y : The prevalence of allergic disease in a province of turkey Turk J Pediatr 38:149, 1996
25. Türkmen M, Karaman Ö, Şen A, Çevik N : İzmir'de ilkokul çocuklarında allerjik hastalıkların prevalansı. VI. Allerji ve Klinik İmmunoloji Kongresi 13-16 Ekim 1994. Ankara
26. İoraç R, Rugöl Z, Demir E, Özdoğru E: Ege bölgesinde 10-17 yaş grubu okul çocuklarında allerjik hastalıkların prevalansı Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi. 39:73, 1996
27. Derman O., Gürkan F, Yaramış A, Haspolat K., Kaya A, Akkuş Z : (Department of Pediatrics Dicle University Medical Faculty, Diyarbakır, Turkey) Frequency of atopic diseases in school children in Diyarbakır [Yeni Tıp Dergisi 17(2): -, 2000] (online database)
28. Cooke RA, Vander Veer A. Human Sensitization. J. Immunol 1916;1:201-305
29. Bjorksten B: Epidemiology of risk factors. In Blumenthal MN; Bjorksten B, editors: Approaches to the study of the genetics of allergy and asthma, 1998 New York, Marcel Dekker
30. Middleton JrE, Reed CE, Ellis EF. Allergy principles and practice 5th Ed The CV Mosby Co. St Louis 1983
31. Blumenthal MN. What we know about the genetics of asthma at the beginning of the 21th century. Clin Rev Allergy Immunol 2002;22:11-32
32. Rosenwasser LJ; Klemm DJ, Dresback H, et al. Promoter polymorphism in chromosome 5 clusterin asthma and atopy. Clin Exp Allergy. 1995; 25:74-8
33. Noguchi E, Shibasaki M, Arinami I, et al Association of asthma and interleukin-4 promoter gene in Japanese Clin Exp Allergy 1998; 28:449-53
34. Heinzman A, Mao XQ, Akaiwa M, et al. Genetic variants of interleukin-13 signaling and human asthma and atopy Hum mol genet 2000; 9:549-59

- 35 Liggett S β_2 - Adrenergic receptor pharmacogenetics. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;3:S197-201
36. Albuquerque RV, Hayden CM, Palmer LJ, et al Association of polymorphism within the tumor necrosis factor (TNF) genes and childhood asthma. *Clin Exp Allergy* 1998;28:578-84
37. Moffatt MF, Cookson WOC Tumor necrosis factor haplotypes and asthma. *Hum Mol Genet* 1997;6:551-4
38. Cookson WOC, Sharp PA, Faux JA, et al Linkage between immunoglobulin F responses underlying asthma and rhinitis and chromosome 11q. *Lancet* 1989;1:1292-5
39. Cookson WOC, Moffatt MF. Genetics of asthma and allergic disease. *Hum Mol Genet* 2000;9:2359-64
40. Xu JF, Meyers DA, Ober C, et al. Genome wide screen and identifying gene-gene interactions for asthma susceptibility loci in three US populations: Collaborative Study on the Genetics of Asthma (CSGA). *Am J Human Genet* 2001;68:1437-46
41. Wjst M, Fischer G, Immervoll I, et al A genome-wide search for linkage to asthma. *Genomics* 1999;58:1-8
- 42 Daniel SE, Bhattacharya S, James AJ, et al A genome-wide search for quantitative loci underlying asthma. *Nature* 1996;383:250.
- 43 Dizier M, Besse-Schmettler C, Guilloud-Bataille M, et al. Genome screen for asthma and related phenotypes in the French EGEA study. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:1812-8.
44. Laitinen T, Daly M, Rioux J, et al. A susceptibility for asthma-related traits on chromosome 7 revealed by genome-wide scan in a founder populations. *Nat Genet* 2001;28:87-91.
- 45 Yokouchi Y, Nukaga Y, Sshibasaki M, et al. Significant evidence for linkage of mite sensitive childhood asthma to chromosome 5131-q33 near the interleukin 12 B locus by a genome Wide screen in Japanese families. *Genomics* 2000;66:152-60
- 46 Dunnill MS The pathology of asthma, with special reference to changes in the bronchial mucosa. *J Clin Pathol* 1960;13:27-33.

47. Laitinen LA, Heino M, Laitinen A Kava T, Haahtele T. Damage of the airway epithelium and bronchial reactivity in patients with asthma. *Am Rev Respir Dis* 1985;131:599-606
48. Beasley R, Roche WR, Roberts IA, Holgate SI. Cellular events in the bronchi in mild asthma and bronchial provocation. *Am Rev Respir Dis* 1989;139:806-17
49. Jeffery PK, Wardlaw AJ, Nelson FC, Collins JV Kay AB. Bronchial biopsies in asthma. An ultrastructural, qualitative study and correlation with hyperreactivity *Am Rev Respir Dis* 1989;140:1745-53
50. Laitinen LA, Laitinen A, Hahtela T, Airway mukosal inflammation even in patients with newly diagnosed asthma *Am Rev Respir Dis* 1993; 147:697-704
51. Kay AB, Corrigan CJ Asthma, Eosinophils and Neutrophils *Br Med Bull* 1992;48:51-64
52. Emanuel MB, Howart PH Asthma and anaphylaxis: arelevant model for chronic disease? An historical analysis of directions in asthma research *Clin Exp Allergy* 1995;25:15-26.
53. Kay AB: Lekocytes in asthma *Immunol Invest* 1988;17:679-705
54. Bradding P, Roberts JA, Britten M, et al Il-4, 5, 6 and TNF- α in normal and asthmatic airways: evidence for the human mast cell as a source of these cytokines. *Am J Respir Cell Molec Biol* 1994;10:471-80
55. Holgate SI Asthma: past, present and future *Eur J Respir Dis* 1993;6: 1507-20.
56. Spiry CJ, Kay AB, Gleich GJ: Eosinophils *Immunol Today* 1992;13:384-7.
57. Diaz P, Gonzalez MC, Galleguillos FR, et al. Leukocytes and mediators in bronchoalveolar lavage during allergen-induced late-phase asthmatic reactions. *Am Rev Respir Dis* 1989;139:1383-9
58. Djukanovich R, Poche WR, Wilson JW, et al Mucosal inflammation in asthma *Am Rev Respir Dis* 1990;142:434-57
59. Walker C, Ribs S, Braun RK, Betz S, Bruijnzeel PL. Increased expression of CD11B and functional changes in eosinophils after migration across endothelial cell monolayers. *J Immunol* 1993;150:4061-71.

- 60 Zjang X, Polla B, Hauser C, Zubler RH. T cells from atopic individuals produce IgE-inducing activity incompletely blocked by anti-interleukin-4 antibody. *Eur J Immunol* 1992;22:829-33.
- 61 Albelda SM. Endothelial and epithelial cell adhesion molecules. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1991;4:195-203.
- 62 Horwitz RJ, Busse WW. Inflammation and asthma. *Clin Chest Med* 1995;16:583-602.
- 63 O'Connor GI, Sparrow D, Weiss ST. The role of allergy and nonspecific airway hyperresponsiveness in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *Am Rev Respir Dis* 1989;140:225-52.
- 64 Lundgren R, Söderberg M, Horstedt P, et al. Morphological studies of bronchial biopsies from asthmatics before and after 10 years of treatment with inhaled steroids. *Eur Respir J* 1988;1:883-9.
- 65 Marshall JS, Biënenstock J. The role of mast cells in inflammatory reactions of the airways, skin and intestine. *Curr Opin Immunol* 1994;6:853-9.
- 66 Fischer AR, Rosenberg MA, Lilly CM, et al. Direct evidence for a role of the mast cell in the nasal response to aspirin in aspirin-sensitive asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1994;94:1046-56.
- 67 Busse WW, Calhoun WJ, Sedgwick JD. Mechanisms of airway inflammation in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1993;147:S20-S24.
- 68 Friedman EM, Coe CL, Ershler WB. Bidirectional effects of interleukin-1 on immune responses in rhesus monkeys. *Brain Behav Immunol* 1994;8:87-99.
- 69 Djukanovic R, Wilson TW, Britten KM, et al. Effect of an inhaled corticosteroid on airway inflammation and symptoms of asthma. *Am Rev Respir Dis* 1992;145:669-74.
- 70 Laitinen A, Laitinen LA. Airway morphology: endothelium/basement membrane. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;150:S14-S17.
- 71 Anderson GG, Morrison JF. Molecular biology and genetics of allergy and asthma. *Arch Dis Child* 1998 May;78(5):488-96.
- 72 Baggiolini M, Dewald B, Moser B. Human cytokines: an update. *Ann Rev Immunol* 1997;15:675-705.

73. Corrigan CJ, Kay AB. T cell/eosinophil interactions in the induction of asthma. *Eur Resp J* 1996;22:72S-78S.
74. Stern M, Meager L, Savill J, Haslett C. Apoptosis in human eosinophils: programmed cell death in the eosinophil leads to phagocytosis by macrophages and is modulated by IL-5. *J Immunol* 1992;148:3543-3549
75. Her E, Frazer J, Austen KF, Owen WF. Cytokine and glucocorticoid effects on eosinophils maintained by endothelial cell conditioned media. *J Clin Invest* 1991;88:1982-1987
76. Gauchat JF, Lebman DA, Coffman RL, Gascan H, de Vries JE. Structure and expression of germline ϵ transcripts in human B cells induced by interleukin 4 to switch to IgE production. *J Exp Med* 1990;172:463
77. Lemanske R F, Green G C. Asthma in Infancy and Childhood. In: Middleton JrE, Reed CE, Ellis EF. *Allergy principles and practice* 5th ed. The CV Mosby Co. St Louis*1998: 877-896
78. Sly R M. Asthma. In: Richard E. Behrman, Robert Kliegman, Hal B. Jenson. *Nelson Textbook of Pediatrics: 16th ed*. WB Saunders, Philadelphia 2000: 664-680
79. Eggleston P.A. Asthma. In: Frank A. Oski. *Principles and Practise of Pediatrics, 2nd ed*. Philadelphia, 1994: 2041-2049
80. Gura A, Bronşial astımlı çocuklarda turbuhaler ve ölçülü doz inhaler sistemlerinin karşılaştırılması, 1997: uzmanlık tezi
81. Rudolph A, Hoffman J I E, Rudolph D C. *Rudolph's Pediatrics 20th Ed* 1996. Larry W Williams part 7 4.6
82. Eggleston PA, Word BH, Pierson WE, et al. Radyographic abnormalities in acute asthma in children. *Pediatrics* 1974;54:442
83. Massague J. IGF- β signal transduction. *Annu Rev Biochem* 1998;67:753-91.
84. Piek E, Heldin CH, Ten Dijke P. Specificity, diversity, and regulation in IGF- β superfamily signaling. *FASEB J* 1999;13:2105-24
85. Wiana JL, Attisano L, Wieser R, Ventura F, Massague J. Mechanism of activation of the IGF- β receptor. *Nature* 1994;370:341-7
86. Nakao A, Imamura T, Souchelnytskyi S, et al. IGF- β receptor-mediated signaling through Smad2, Smad3 and Smad4. *EMBO J* 1997;16:5353-62

87. Minshall EM, Leung DYM, Martin RJ, Song YL, Cameron L, Ernst P, Hamid Q. Eosinophil-associated TGF- β 1 mRNA expression and airways fibrosis in bronchial asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1997; 17:326-333
88. Roche WR, Beasley R, Williams JH, Holgate ST. Subepithelial fibrosis in the bronchi of asthmatics. *Lancet* 1989;8637I:520-524
89. Sime PJ, Xing Z, Graham FL, Csaky KG, Gaulkie J. Adenovector-mediated gene transfer of active transforming growth factor β -1 induces prolonged severe fibrosis in rat lung. *J Clin Invest* 1997;100:768-776
90. Ignatz RA, and Massague J. Transforming growth factor- β stimulates the expression of fibronectin and collagen and their incorporation into the extracellular matrix. *J Biol Chem.*1986; 261:4337-4345
91. Ohno I, Nitta Y, Yamauchi K, Hoshi H, Honma M, Woolley K, O'Byrne P, Tamura G, Jordana M, Shirato K. Transforming growth factor β 1 (TGF β 1) gene expression by eosinophils in asthmatic airway inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1996;15:404-409
92. Newton C R, Graham A, Heptinstall L E, et al. Analysis of point mutation in DNA. The amplification refractory mutation system (ARMS). *Nucleic Acids Research* 1989;17:2503-2517.
93. Arkwright PD, Laurie S, Super M, et al. TGF- β 1 genotype and accelerated decline in lung function of patients with cystic fibrosis. *Thorax* 2000;55:459-462

**AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
MERKEZ KÜTÜPHANESİ**