



T.C.

ANKARA YILDIRIM BEYAZIT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ASTIM VE IL-17 GEN POLİMORFİZMİ İLİŞKİSİ

DOKTORA TEZİ

Gülbahar DARILMAZ YÜCE

TIBBİ GENETİK PROGRAMI

Ankara, 2021

T.C.
ANKARA YILDIRIM BEYAZIT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ASTIM VE IL-17 GEN POLİMORFİZMİ İLİŞKİSİ

DOKTORA TEZİ

Dr. Gülbahar DARILMAZ YÜCE

TIBBİ GENETİK PROGRAMI

Ankara, 2021

TEŞEKKÜR

Doktora programım tez aşamasında her türlü desteği veren, bilgi ve tecrübeleri ile yol gösteren tez danışmanım Doç Dr. Gülay GÜLEÇ CEYLAN'a teşekkür ederim.

Laboratuvar aşamasında maddi, manevi ve akademik katkılarından dolayı INTERGEN Genetik ve Nadir Hastalıklar Tanı Araştırma ve Uygulama Merkezi sorumlusu Doç. Dr. Serdar CEYLANER'e, laboratuvar çalışmaları boyunca her türlü desteği veren laboratuvar koordinatörü Yüksek Moleküler Biyolog Haldun DOĞAN'a, çalışmanın istatistiksel değerlendirilmesindeki katkılarından dolayı Başkent Üniversitesi BUİSTDAM Merkez Müdürü Prof. Dr. Meriç YAVUZ ÇOLAK'a ve Başkent Üniversitesi BUİSTDAM Merkezi Arş. Gör. Uğur TOPRAK'a, teşekkür ederim. Akademik katkıları ve manevi desteği ile yanımda olan Göğüs Hastalıkları ve Alerji İmmünoloji Uzmanı Doç.Dr. Bülent BOZKURT'a teşekkür ederim.

Hayatım boyunca destekleriyle her an yanımda olan annem, babam, eşim ve çocuklarıma tüm kalbimle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Astım Tanım.....	3
2.2. Astım Epidemiyoloji.....	3
2.3. Astım Yüğü ve Maliyeti.....	4
2.4. Astım Gelişiminde Risk Faktörleri.....	5
2.4.1. Kişisel Etkenler.....	5
2.4.2. Çevresel Etkenler.....	7
2.5. Astım İmmünopatogenezi.....	11
2.5.1. Astım İmmünopatogeneğinde Rol Oynayan Hücreler	12
2.5.2. Astımda Th17 ve IL-17.....	15
2.5.3. Astımda Treg Hücreleri.....	16
2.5.4. Astımda Araşidonik Asit Metabolizması.....	16
2.5.5. Astımda Rol Oynayan Diğer Mediyatörler.....	17
2.5.6. Astımda Hava Yolu Yeniden Yapılanması.....	17
2.6. Astımda Fenotip ve Endotip.....	18
2.6.1. Alerjik Astım.....	19
2.6.2. Aspirinle Tetiklenen Solunum Yolu Hastalığı.....	19

2.6.3. Enfeksiyonla Tetiklenen Astım.....	19
2.6.4. Egzersizle Tetiklenen Astım.....	19
2.6.5. Eozinofilik Astım.....	19
2.6.6. Nötrofilik Astım.....	20
2.6.7. İrreversibl Hava Yolu Obstrüksiyonuyla Seyreden Astım.....	20
2.7. Astım Tanısı.....	20
2.7.1. Anamnez.....	21
2.7.2. Fizik Muayene.....	21
2.7.3. Spirometri.....	22
2.7.4. Ekspiratuvar Hava Yolu Obstrüksiyonunda Değişkenliğin Gösterilmesi.....	23
2.7.5. Hava Yolu Aşırı Duyarlılık Testleri (Bronş Provokasyon Testleri).....	24
2.7.6. Ekshale Nitrik Oksit Testi (FeNO).....	24
2.7.7. Kan Eozinofilleri.....	25
2.7.8. Balgam Eozinofilleri.....	25
2.7.9. Deri Prick Testi (SPT).....	25
2.7.10. Akciğer Grafisi.....	25
2.8. Astımın Ayırıcı Tanısı.....	26
2.9. Astımın Değerlendirilmesi ve Kontrol.....	26
2.9.1. Astımın Değerlendirilmesi.....	27
2.9.2. Astımda Kontrol.....	28
2.10. Astım Tedavisinde Kullanılan İlaçlar.....	29
2.10.1. Astım Tedavisi Uygulama Yolu.....	29
2.10.2. Kontrol Edici İlaçlar.....	30

2.11. Astım Tedavisinde Biyolojik Ajanlar.....	31
2.11.1. Anti-IgE.....	31
2.11.2. Anti-IL-5.....	32
2.11.3. Anti-IL-4/IL-13.....	32
2.12. Astımda Tedavi.....	32
2.12.1. Astım Başlangıç Tedavisi.....	33
2.12.2. Tedaviye Yanıtın İzlenmesi ve Değerlendirilmesi.....	33
2.13. Astımda İmmünoterapi.....	33
2.14. İnterlökin 17 (IL-17).....	34
2.14.1. <i>IL-17</i> Geni ve IL-17.....	34
2.14.2. IL-17 Sitokin Ailesi.....	35
2.14.3. IL-17 Yapısı.....	36
2.14.4. IL-17 Reseptör Ailesi.....	37
2.14.5. Hava Yolu İnflamasyonunda IL-17 Sinyali.....	37
2.14.6. IL-17 Astım İlişkisi.....	38
2.14.7. IL-17 Terapötik Hedefler.....	39
2.14.8. Polimorfizm	39
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	41
3.1. Klinik Araştırmalar Etik Kurul Onayı.....	41
3.2. Araştırmanın Türü.....	41
3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi.....	41
3.3.1. Hasta Grubu.....	41
3.3.2. Kontrol Grubu.....	42
3.4. Araştırılan <i>İnterlökin-17 (IL-17)</i> Geni Tek Nükleotid Polimorfizmleri..	42
3.5. DNA İzolasyonu.....	43

3.6. Primer Tasarımı.....	44
3.6.1. Primer Tasarımı Yapılırken Dikkat Edilen Kriterler	44
3.7. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR).....	48
3.8. Amplifikasyon ile Çoğaltılan Ürünlerin Kontrolü (Jel Elektroforezi).....	49
3.8.1. Jel Hazırlık Aşamaları.....	49
3.8.2. Jelin Yürütülmesi.....	49
3.9. Pürifikasyon, Ölçüm ve Standardizasyon.....	51
3.10. Yeni Nesil Dizileme (Next-Generation Sequencing, NGS).....	52
3.11. Veri Analizi.....	55
3.11.1. Hizalama (Alignment).....	55
3.11.2. Analiz.....	55
3.12. İstatistiksel Analiz.....	56
4. BULGULAR.....	57
5. TARTIŞMA.....	70
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	76
7. KAYNAKLAR	77
8. EKLER.....	88
Ek-1. Özgeçmiş.....	88
Ek-2. Etik Kurul Raporu	89
Ek-3. İzin Formu	90

ÖZET

Astım ve IL-17 Gen Polimorfizmi İlişkisi

Astım sık görülen hava yollarının kronik obstrüktif inflamatuvar bir hastalığıdır. Türk popülasyonunda astım ile *IL-17F* geni 7488T>C (rs763780), *IL-17A* geni -197G>A (rs2275913) ve *IL-17A* geni -737C>T (rs8193036) polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi araştırmayı amaçladık.

Çalışmamızda 65 hasta ve 62 kontrol grubu olmak üzere toplam 127 kişiden alınan periferik kan örnekleri *IL-17F* geni 7488T>C, *IL-17A* geni -197G>A ve *IL-17A* geni -737C>T polimorfizmleri için yeni nesil dizileme yöntemiyle analiz edilmiştir.

IL-17A geni -197G>A ve *IL-17A* geni -737C>T polimorfizmleri ile astım hastalığı gelişme riski arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığı görülmüştür. *IL-17F* geni 7488T>C polimorfik bölgesinde C aleline sahip bireylerde hasta olma riskinin T aleline sahip bireylerden 2.9 kat daha fazla olduğu bulunmuştur. GTT haplotip taşıyıcıları ile karşılaştırıldığında ATT ve GCT haplotip taşıyıcılarının hastalık riskini arttırdığı gösterilmiştir.

Sonuç olarak *IL-17F* geni 7488T>C polimorfizmi Türk popülasyonunda astım ile ilişkili bulunmuştur. *IL-17* geni astım duyarlılığını tahmin etmede ve astım tedavisinde potansiyel bir aday gen olarak daha fazla araştırılmalıdır.

Anahtar kelime: Astım, *IL-17*, polimorfizm, rs763780, rs2275913, rs8193036.

ABSTRACT

Relation of Asthma and IL-17 Gene Polymorphism

Asthma is a chronic obstructive inflammatory disease of the airways. We aimed to investigate the relationship between asthma and polymorphisms of *IL-17F* gene 7488T>C (rs763780), *IL-17A* gene -197G>A (rs2275913) and *IL-17A* gene -737C>T (rs8193036) in Turkish population.

In our study, peripheral blood samples obtained from a total of 127 people, 65 patients and 62 control groups, were used for new polymorphisms of *IL-17F* gene 7488T>C, *IL-17A* gene -197G>A and *IL-17A* gene -737C>T. It was analyzed by next generation sequencing method.

There was no statistically significant relationship between *IL-17A* gene -197G>A and *IL-17A* gene -737C>T polymorphisms and the risk of developing asthma disease. It was found that individuals with the *IL-17F* gene 7488T>C polymorphism C allele had a 2.9-fold higher risk of getting sick than individuals with the T allele. ATT and GCT haplotype carriers have been shown to increase disease risk compared to GTT haplotype carriers.

As a result, *IL-17F* gene 7488T> C polymorphism was found to be associated with asthma in the Turkish population. The IL-17 gene should be further investigated in predicting asthma sensitivity and as a potential candidate gene in the treatment of asthma.

Key words: Asthma, *IL-17*, polymorphism, rs763780, rs2275913, rs8193036.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
WHS	: World Health Survey
PARFAIT	: Prevalence and Risk Factors of Allergies in Turkey
GWAS	: Genom çapında ilişki çalışmaları
ADRB2	: β 2-adrenerjik reseptör geni
ADAM33	: Disintegrin ve metaloproteaz domain 33
SNP	: Single nükleotit polimorfizm
CpG	: Sitozinfosfoganin
HDAC	: Histon deasetilaz
PM	: Partiküler madde
DEP	: Dizel egzoz partikülü
Treg	: Regülatuar T hücre
PAH	: Poliaromatik hidrokarbon
DDE	: di-klordifenil-dikloretilen
RUNX	: Transkripsiyon faktör 3
NO2	: Nitrojen dioksit
FEV1	: Zorlu ekspiratuvar hacim
TSSB	: Travma sonrası stres bozukluğu
ÜSYE	: Üst solunum yolu enfeksiyonu
ASYE	: Alt solunum yolu enfeksiyonu
RSV	: Respiratuvar sinsityal virüs
Th	: T helper
OA	: Mesleki astım
HMW	: Yüksek moleküler ağırlıklı bileşikler
LMW	: Düşük moleküler ağırlıklı bileşikler
IgE	: İmmünoglobülin E
BHR	: Bronş hiperreaktivitesi
NK	: Natural killer
DC	: Dentritik hücreler
APC	: Antijen sunan hücre
STAT6	: Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon 6 aktivatörü

TSLP	: Timik stromal lenfopoietin
BAL	: Bronkoalveolar lavaj
COX	: Siklooksijenazlar
LO	: Lipoksijenazlar
NO	: Nitrik Oksit
NSAID	: Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar
AIA	: Aspirin kaynaklı astım
EIA	: Egzersize bağlı astım
BMI	: Vücut kitle indeksi
ILC2	: Tip 2 doğal lenfoid hücreler
TGF	: Transforming growth faktor
HETE	: Hidroksieikosatetraenoik asit
PGD2	: Prostaglandin D2
PGF2a	: Prostaglandin F2a
LTB4	: Lökotrien B4
LTC4	: Lökotrien C4
LTD4	: Lökotrien D4
LTE4	: Lökotrien E4
TNF- α	: Tümör nekroz faktör- α
GINA	: Global Initiavite For Asthma
SABA	: Kısa etkili beta agonist
LABA	: Uzun etkili beta agonist
SFT	: Solunum fonksiyon testi
FEV1	: Zorlu ekspiratuar 1. saniye volümü
FVC	: Zorlu vital kapasite
PEF	: Zirve ekspiratuar akım hızı
FeNO	: Ekshale Nitrik Oksit Testi
SPT	: Deri prick testi
AKO	: Astım ve KOAH Overlap
KOAH	: Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
ACE	: Anjiyotensin dönüştürücü enzim
EKG	: Elektrokardiyografi
EKO	: Ekokardiyografi
İKS	: İnhaler kortikosteroid

LTRA	: Lökotrien reseptör antagonisti
AKT	: Astım Kontrol Testi
ACQ	: Astım Kontrol Ölçeği
GORH	: Gastroözefageal reflü hastalığı
ÖDİ	: Ölçülü doz inhaler
KTİ	: Kuru toz inhaleri
Cys LT1	: Sisteinil lökotrien tip 1
PA	: Postero-anterior
CFC	: Kloroflorokarbonlar
HFA	: Hidrofloroalkanlar
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AB	: Avrupa Birliği
FcyRI	: IgE yüksek afiniteli reseptör
mAb	: Monoklonal Antikor
SOCS3	: Sitokin sinyal supressör 3
TGF- β 1	: Transforme edici büyüme faktör beta 1
kDa	: Kilodalton
NGF	: Sinir büyüme faktörü
CXCL	: Kemokin (C-X-C) ligandları
G-CSF	: Granülosit koloni uyarıcı faktör
GM-CSF	: Granülosit Makrofaj koloni uyarıcı faktör
ICAM-1	: Hücre içi adhezyon molekülü -1
MAPK	: Mitojenle aktive olan protein kinaz
ILC3	: Tip 3 doğal lenfoid hücreler
mRNA	: Haberci RNA
YBÜ	: Yıldırım Beyazıt Üniversitesi
Rpm	: revolutions per minute
C	: Sitozin
T	: Timin
V	: Volt
F	: Forward
R	: Reverse
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
TBE	: Tris-Borik asit-EDTA

EtBr	:Etidyum bromür
NGS	: Yeni nesil dizileme, Next-Generation Sequencing
IGV	: Integrative Genomics Viewer
MAF	: Minör alel frekansı
EM	: Expectation Maximization
RFLP	: Restriksiyon Fragment Length Polymorphism
COVID-19	: Korona virüs hastalığı 2019



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1.	Eozinofilik havayolu inflamasyonunda rol oynayan sitokinler.....	14
Şekil 2.2.	Doğuştan gelen alerjik havayolu inflamasyonu	15
Şekil 2.3.	IL-17 Aracılı havayolu patolojisi	16
Şekil 2.4.	6. Kromozom.....	34
Şekil 2.5.	IL-17A ve F'nin yapısı.....	36
Şekil 2.6.	Hava yolu inflamasyonunda IL-17 sinyali.....	37
Şekil 3.1.	IL-17F geninin PCR ile çoğaltılan hedef bölgeleri, primerler ve SNP noktaları.....	46
Şekil 3.2.	IL-17A geninin PCR ile çoğaltılan hedef bölgeleri, primerler ve SNP noktaları.....	47
Şekil 3.3.	PCR işleminin gerçekleştiği BIO-RAD T100 Thermal Cycler PCR cihazı.....	48
Şekil 3.4.	Jel yürütme tankı, jel görüntüleme cihazı.....	50
Şekil 3.5.	Hasta grubundan H8 nolu hastanın PCR ürünlerinin jel görüntüsü.....	51
Şekil 3.6.	NucleoFast® 96 PCR kiti ile pürifikasyonun yapıldığı otomatik pipetleme sistemi ve vakum manifoldu.....	52
Şekil 3.7.	Qubit.....	53
Şekil 3.8.	Tüm gen dizi analizinin yapıldığı Miseq yeni nesil DNA dizileme cihazı.....	54
Şekil 3.9.	Miseq Reagent Kit v2 2x150 , Flow cell	54
Şekil 4.1.	Kontrol grubundan dört örneğe ait dizi analizi amaçlı verinin IGV'de görünümü.....	60
Şekil 4.2.	Kontrol grubundan beş örneğe ait genotipleme amaçlı verinin IGV'de görünümü.....	61
Şekil 4.3.	Genotip sıklığı grafiği.....	69

TABLÖLER DİZİNİ

Tablo 2.1.	Klinik ve fizyolojik özelliklerine göre fenotipler	18
Tablo 2.2.	Astım tanı kriterleri	22
Tablo 2.3.	GINA semptom kontrol değerlendirme algoritması	28
Tablo 2.4.	IL-17A boyut ve konumu	35
Tablo 2.5.	IL-17F boyut ve konumu	35
Tablo 2.6.	IL-17 Sitokin Ailesi	36
Tablo 2.7.	IL-17 ve ilişkili olduğu durumlar	39
Tablo 3.1.	Kullanılan primerler ve amplikon boyları	45
Tablo 3.2.	PCR reaksiyon içerikleri	48
Tablo 3.3.	PCR için termal döngü protokolü	49
Tablo 3.4.	SNP genotipleme	55
Tablo 4.1.	Grupların yaş dağılımı	57
Tablo 4.2.	Grupların cinsiyet dağılımı	57
Tablo 4.3.	SNP1 genotip ve alel frekanslarının cinsiyete göre dağılımı	58
Tablo 4.4.	SNP2 genotip ve alel frekanslarının cinsiyete göre dağılımı	58
Tablo 4.5.	SNP3 genotip ve alel frekanslarının cinsiyete göre dağılımı	59
Tablo 4.6.	Hasta grubunda tespit edilen genotipler	62
Tablo 4.7.	Kontrol grubunda tespit edilen genotipler	63
Tablo 4.8.	SNP1 <i>IL-17A</i> geni -197G>A alel ve genotip frekansları	64
Tablo 4.9.	SNP2 <i>IL-17A</i> geni -737C>T alel ve genotip frekansları	64
Tablo 4.10.	SNP3 <i>IL-17F</i> geni 7488T>C alel ve genotip frekansları	65
Tablo 4.11.	Hardy-Weinberg dengesi için Exact test	65
Tablo 4.12.	SNP1 <i>IL-17A</i> geni -197G>A genotip dağılımı	66
Tablo 4.13.	SNP2 <i>IL-17A</i> geni -737C>T genotip dağılımı	66
Tablo 4.14.	SNP3 <i>IL-17F</i> geni 7488T>C genotip dağılımı	67
Tablo 4.15.	Çoklu SNP analizi, haplotip frekansları tahmini	68
Tablo 4.16.	Haplotip analizi	69

1.GİRİŞ

Astım hava yollarının kronik obstrüktif inflamatuvar bir hastalığıdır. Hırıltı, nefes darlığı, öksürük, göğüste sıkışıklık hissi gibi semptomlar ve bu semptomların varlığı, sıklığı ve yoğunluğunun aynı hastada zaman içinde değişken olması ile karakterize bir hastalıktır. Astım sık görülen ve altta yatan farklı mekanizmalar ile tanımlanan, farklı klinik tipleri bulunan heterojen bir hastalıktır.

Kronik hastalıklardan biri olan astım, farklı ülkelerde nüfusun %1-20'sini ve tüm dünyada tahmini olarak 300 milyon kişiyi etkilemektedir. Ülkemizde erişkinlerdeki astım prevalansı %1.2-9.4 arasında bildirilmiştir. Sıklığı toplumdan topluma farklılıklar gösterse de en yaygın solunum hastalıkları arasındadır. Astım son yıllarda daha yaygın bir hastalık haline gelmiştir. Dünya çapında astımdan dolayı yılda yaklaşık 250.000 kişinin öldüğü ve 2025 yılında mevcut astımlılara 100 milyon yeni astımlı hastanın ilave olacağı tahmin edilmektedir. Önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir. Astım; hastanın kendisi, ailesi ve sağlık sistemi açısından hem sosyal hem de ekonomik olarak önemli bir yük oluşturmaktadır. Astım gelişiminde kişisel ve çevresel faktörler önemli rol oynar. Hastalık poligenik ve çok faktörlüdür.

Astım etyopatogenezinde çevresel faktörlerin yanı sıra genetik faktörlerin de astım başlangıcı, şiddeti ve tedavisi üzerinde etkileri olduğu uzun süredir bilinmektedir. Astımın patogenezinde birçok gen rol oynamaktadır. Son zamanlarda, gen polimorfizmleri astım patogenezinin ilişkili önemli bilgiler sağlayan yoğun bir araştırma alanı haline gelmiştir.

İnterlökin-17, yeni bir proinflamatuvar sitokin ailesidir. İnflamatuvar ve otoimmün hastalıkların gelişmesinde ve ilerlemesinde önemli bir rol oynamaktadır. *IL-17* geni astım duyarlılığını tahmin etmede potansiyel bir aday gen olarak kabul edilmektedir. *IL-17F* geni 7488T>C, *IL-17A* geni -197G>A ve *IL-17A* geni -737C>T polimorfizmleri yaygın olarak astım ile ilişkili bulunmuştur. Bununla birlikte, bu 3

tek nükleotid polimorfizminin [single nucleotide polymorphism (SNP)] astım duyarlılığı ile ilişkili olmadığını gösteren çelişkili kanıtlar da bulunmaktadır. Bu nedenle bu tez çalışmasında, Türk toplumunda astım ile *IL-17F* geni 7488T>C (rs763780), *IL-17A* geni -197G>A (rs2275913) ve *IL-17A* geni -737C>T (rs8193036) polimorfizmlerinin ilişkisini araştırmayı planladık.



2.GENEL BİLGİLER

2.1. Astım Tanımı

Astım hışıltı, nefes darlığı, öksürük, göğüste sıkışıklık hissi semptomları ve bu semptomların varlığı, sıklığı ve yoğunluğunun aynı hastada zaman içinde değişken olması ile karakterize bir hastalıktır. Semptomlar değişken ekspiratuvar hava akımı kısıtlanması ile ilişkilidir. Semptomların ve ekspiratuvar hava akımı kısıtlanmasının zaman içindeki değişkenliği astımın tipik ve tanımlayıcı özelliği olup astımın diğer solunum yolu hastalıklarından ayırımında önemlidir. Astım sık görülen ve altta yatan farklı mekanizmalar ile tanımlanan farklı klinik tipleri bulunan heterojen bir hastalıktır. Hastalığın klinik özellikleri, doğal seyri, patofizyolojik mekanizmaları ve tedavi yanıtı farklı astım tipleri arasında değişkenlik göstermektedir. Hastalık genellikle birçok hücre ve mediatörün rol aldığı kronik hava yolu inflamasyonu ve hava yolu aşırı duyarlılığı ile ilişkilidir. Semptomlar ve hava akımı kısıtlanması, viral solunum yolu infeksiyonları, iritan ya da allerjen maruziyeti, egzersiz gibi faktörler ile tetiklenebilir veya tedavi ile ya da kendiliğinden düzelme gösterebilir (1).

2.2. Astım Epidemiyolojisi

Astım dünyada yaklaşık olarak 300 milyon kişiyi etkileyen kronik bir hastalıktır. Farklı ülkelerde nüfusun %1-20'sini etkilemektedir (2).

Dünya Sağlık Örgütü'ne (DSÖ) üye olan, Türkiye'nin de dahil olduğu, 70 ülkenin verilerinin değerlendirildiği Dünya Sağlık Araştırması [World Health Survey (WHS)] çalışmasına göre, dünya genelindeki astım ve hışıltı semptomu prevalansı sırasıyla, %4.27 ve %8.61'dir. Ülkemizde ise astım prevalansı %2.06, hışıltı semptomu prevalansı ise %11.34 olarak bulunmuştur (3). Bu çalışmaya göre ülkemizde astım sıklığı, dünya geneli ve Avrupa'daki prevalanstan daha düşük görünmektedir.

Türk Toraks Derneği'nce yapılan çok merkezli, 14 ayrı şehir ve toplam 25.843 kişinin katıldığı Türkiye'de Alerji Yaygınlığı ve Risk Faktörleri [Prevalence and Risk Factors of Allergies in Turkey (PARFAIT)] çalışmasına göre; astım sıklığı tüm Türkiye genelinde erkeklerde %7.1, kadınlarda ise %9 olarak bulunmuştur (4).

Ülkemizin dahil olduğu en yakın tarihli astım prevalansı çalışması olan SNAPSHOT programında, astım ve alerjik rinit hakkında veri toplamak için beş Orta Doğu ülkesinde (Mısır, Türkiye, Kuveyt, Suudi Arabistan ve Birleşik Arap Emirlikleri) yapılan çalışmaya göre Orta Doğu'da gözlemlenen düzeltilmiş astım prevalansı %4.4 ile %7.6 arasında değişmektedir. Bu oran, Avrupa ve Kuzey Amerika'da bildirilen prevalanstan nispeten daha düşük bulunmuştur (5). Ancak ülkemizde semptom prevalansı ile doktor tanılı astım prevalansı arasındaki fark diğer ülkelerden daha fazla görünmektedir. Bu durum, astımın toplumumuzda yeterince bilinmemesi, hastaların astımın tedavi edilemez, ağır bir hastalık olduğu gibi yanlış yargıları ve ülkemizde hastalara, hastalık durumu açıklanırken zaman zaman astım terimi yerine başka terimlerin kullanılmasından kaynaklanıyor olabilir (1).

Dünya çapında gerçekleşen her 250 ölümden birinin astım nedeniyle olduğu ve her yıl yaklaşık 250 000 kişinin bu hastalıktan öldüğü tahmin edilmektedir (6).

2.3. Astım Yükü ve Maliyeti

Astım oldukça sık görülen kronik solunum yolu hastalıklarından birisidir. Tüm dünyada gözlenen küresel bir halk sağlığı sorunudur. Astım; hastalar, hasta yakınları ve sağlık sistemi için önemli bir yük oluşturmaktadır. Hasta başına ortalama tıbbi maliyet (ayaktan tedavi ziyaretleri, laboratuvar testleri, radyolojik testler, hastaneye yatışlar, müdahaleler, ilaç tedavisi ve ek hastalıklar) değerlendirildiğinde ciddi astımlı hastaların tedavisinin Türkiye'deki sağlık ekonomisi için önemli bir yük oluşturduğu gösterilmiştir (7). Astım kontrolünün yetersiz olması, kontrollü astıma kıyasla sağlık hizmeti kullanım sıklığında artış, daha düşük yaşam kalitesi ve günlük yaşam üzerinde daha yüksek etki ile doğrudan tedavi maliyetlerinde artışla ilişkili bulunmuştur (8).

2.4. Astım Gelişiminde Risk Faktörleri

Astımın ortaya çıkış ve gelişmesinde etkili risk faktörleri, kişisel ve çevresel risk faktörleri olarak sınıflandırılabilir (9).

2.4.1. Kişisel Etkenler

2.4.1.1. Genetik Etkenler

Astım, multifaktöriyel kalıtım gösteren bir hastalıktır. Çevresel maruziyetlere ek olarak, genetik faktörlerin astımın başlangıcı, şiddeti ve tedavisi üzerinde önemli bir etkisi vardır. Genetik faktörlerin klinik olarak ilişkili fenotipleri oluşturduğu bilinmektedir. Alerjik ebeveyni olan bir çocuğun alerjik olma riski %30-50 iken, ebeveynlerinden her ikisi de alerjikse bu oran %60-80'e yükselmektedir (10). Tüm genom bağlantı analizleri [Genome-wide association study (GWAS)] astım dahil olmak üzere yaygın multifaktöriyel kalıtım gösteren hastalıkların genetik temellerini araştırmada yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Binden fazla yayında, astım, yüksek IgE seviyeleri, bronşiyal aşırı duyarlılık ve eozinofili ilişkili bir fenotip için 600'den fazla aday gen tanımlanmıştır. Genlerin işlevi hala tam olarak bilinmemektedir, ancak farklı genlerdeki polimorfizmlerin astımın kökenini, ciddiyetini ve tedaviye yanıtlarını etkilediği gösterilmiştir (11,12).

İkiz çalışmaları da astıma yatkınlıkta genetik bir unsur olduğunu göstermiştir (13,14). İkiz çalışmaları, astım şiddetindeki fenotipik değişkenliğin yaklaşık %25'inin genetik faktörler tarafından belirlendiğini, geri kalanının ise çevresel, psikososyal faktörler, davranışsal özellikler ve komorbiditeleri içeren genetik olmayan faktörler tarafından belirlendiğini göstermiştir. Bununla birlikte, 57 000'den fazla kişide yürütülen GWAS daha önce astımla ilişkili olmayan yirmibeş lokus için önemli ilişkiler göstermiştir. GATA bağlayıcı protein 3 (*GATA3*), müsin 5AC (*MUC5AC*), transmembran protein KIAA1109 (*KIAA1109*) astımla ilişkili bulunmuştur. Kromozom 5q üzerinde lokalize olan DNA onarım proteini RAD50 (*RAD50*), İnterlökin-13 (*IL-13*) ve 17q21 konumunda kodlanan sfingolipid biyosentez düzenleyici 3 (*ORMDL3*), Gasdermin B (*GSDMB*) lokusu yer almaktadır (15). Sitokinler, astım patogenezinin tipini, ciddiyetini ve sonuçlarını belirledikleri

için astımın farklı yönlerine katkıda bulunurlar. Atak geçiren alerjik astımlılar, önemli ölçüde daha yüksek proinflatuvar sitokin seviyeleri sergilemektedir. Son yıllarda, sitokinlerin ve reseptörlerinin oldukça polimorfik olduğu gösterilmiştir. Astımlı hastalarda interlkinlerin ekspresyonu ve sekresyonunun, genetik polimorfizmlerden etkilendiği, bu polimorfizmlerin hava yolunda düzenleyici bir etkiye sahip olduğu ve terapötik yanıtı düzenlediği düşünülmektedir (16).

2.4.1.2. Atopi

Atopi ve alerji yanlışlıkla birbirinin yerine kullanılmaktadır. "Atopi" ortak çevresel proteinlere karşı yüksek seviyelerde immünoglobulin E (IgE) retimine kalıtsal bir yatkınlığı ifade eder. Bu bağışıklık durumu yaygındır. Atopi tamamen asemptomatik olabilir. Atopik bireylerin yalnızca bir alt kümesi semptom geliştirir, bu durumda "alerji" veya "atopik hastalık" terimleri kullanılabilir. Deri prick testleri ve spesifik IgE testleri atopiyi teşhis etmesi açısından önemlidir. Doğrudan nedensel bir alerjiyi doğrulamak için bir de öykü alınmalıdır. Çevresel alerjenlere karşı ilk duyarlılaşma tipik olarak çocuklukta gerçekleşir. Atopi asemptomatik olabilse de yine de gelecekte astım gelişimi için en güçlü tanımlanabilir predispozan faktör olmaya devam etmektedir (17). Atopik bireylerde astım gelişimi açısından 10-20 kat artmış risk bulunmaktadır (18). Atopik deneklerin yaklaşık %25-30'unda astım geliştiği gösterilmiştir (19).

2.4.1.3. Bronş Hiperreaktivitesi

Bronşiyal ařırđ duyarlılık, bronkokonstriktör bir uyarana maruz kalındığında hava yolu daralmasına neden olan inflamatuvar sürecin temel bir bileşenidir. Hastaların nefes darlığı, göğüste sıkışma, öksürük ve hırıltı gibi semptomlar yaşamasına neden olur. Doğrudan ve dolaylı uyaranlara karşı bronşiyal ařırđ duyarlılığın derecesini belirlemek için solunum laboratuvarında bronş provokasyon testleri yapılabilir (20). Bronş ařırđ duyarlılığı, Astım tanısı ile eşanlımlı olmasa da her yaştaki semptomatik astımlı hastada bulunmaktadır, astımın en karakteristik ve en önemli tanısal özelliklerinden biri olarak kabul edilir (21).

2.4.1.4. Cinsiyet

Erkek cinsiyet çocukluk dönemi astımı için önemli bir risk faktörüdür. On dört yaşından önceki dönemde astım prevalansı erkek çocuklarda kız çocukların yaklaşık iki katı olarak bulunmuştur. Yaş ilerledikçe bu fark kapanmakta, yetişkin döneme gelindiğinde astım kadınlarda daha sık görülür hale gelmektedir (9).

2.4.1.5. Obezite

Obezite astım riski ve prognozu üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Epidemiyolojik çalışmalar, obez hastalarda astımın daha olası olduğunu ve astımlılarda daha fazla semptom, daha kötü yaşam kalitesi, artan sağlık hizmeti kullanımı olduğunu göstermiştir (22). Obezite astım geliştirme riskini artırmanın yanı sıra hava yolu inflamasyonunu artırır ve astımı daha zor kontrol edilebilen fenotipe doğru yönlendirebilir ayrıca tedaviye yanıtı değiştirebilir (23,24).

2.4.2. Çevresel Etkenler

2.4.2.1. Sigara içimi

Aktif sigara içiminin astım gelişimi için risk faktörü olduğu, sigara içenlerde astım kontrolünü sürdürmenin daha zor olduğu gösterilmiştir. Sigara hava yolunda inflamasyonu arttırarak ve kortikosteroid duyarsızlığına neden olarak astımı kötüleştirir (3,25). Sigara ile astım riskinin artması arasında açık bir ilişki olduğu gösterilmiştir (26,27). Astımlı bireylerin yaklaşık %25 ile %35'i sigara içmektedir (28). Astımlı hastalarda tütün dumanına uzun süre maruz kalma, birinci saniiyedeki zorlu ekspiratuvar hacimde (FEV1) yaklaşık %18'lik bir azalmaya katkıda bulunmaktadır (29). Sigara içen astımlı hastalar amfizemin erken evrelerinde bulunanlara benzer özellikler göstermektedir (30). Sigara bronşiyal epitele doğrudan toksik etki, oksidatif hasara neden olan proinflamatuvar mediyatörlerin salınımı ve artan epitel geçirgenliği yoluyla astımı kötüleştirir. Sigara içimi ile ilişkili proinflamatuvar aracı ve sitokinler ise IL-8, Lökotrien B4 (LTB4), Prostaglandin E2, Anjiyopietin 2, Eotaxin 1'dir. (31).

2.4.2.2. Stres

Güncel kanıtlar, kronik psikososyal stres ile astım ve astım morbiditesi arasında nedensel bir ilişki olduğunu göstermektedir. Strese karşı davranışsal, otonomik, nöroendokrin ve immünolojik tepkileri düzenleyen genlerde epigenetik değişiklikler olduğu gösterilmiştir. Kronik olarak stresli gençleri hem travma sonrası stres bozukluğuna (TSSB) hem de astıma yatkın hale getiren yatkınlık genlerinin varlığını gösteren kanıtlar vardır (32).

2.4.2.3. Alerjenler

Genetik olarak yatkın kişilerde erken çocukluk döneminde, çevresel faktörlere özellikle de iç ortam alerjenlerine erken dönemde maruz kalmanın, alerjik hava yolu hastalığı gelişimi için güçlü bir etkiye sahip olduğu rapor edilmiştir. Astımda etyolojik olarak önemli alerjenler, inhalen alerjenlerdir. Havadaki antijen partiküllerinin solunum yolu ile alınması reaksiyona neden olur. Astımda rol oynayan alerjenler iç ortam ve dış ortam alerjenleri olarak iki grupta incelenir (33,34). İç ortam alerjenleri ev tozu akarları, hamamböceği, küf mantarları (*Aspergillus-Penicillium*, *Alternaria*, *Cladosporium*), evcil hayvanlar (kedi, köpek), dış ortam alerjenleri ise polenler ve mantarlardır (*Alternaria*, *Cladosporium*).

2.4.2.4. Hava Kirliliği

İç ve dış hava kirliliğine maruz kalmak hem astım gelişimi hem de astım semptomlarının tetiklenmesi için önemli bir risk faktörüdür (35). Kentlerde yaşayan çocuklarda astım prevalansı ve morbiditesinin daha yüksek olduğu bilinmektedir. Partiküler madde (PM) ve nitrojen dioksit (NO_2) gibi ev içi kirlleticiler astımlı çocuklarda artmış semptomlarla ilişkilidir (36). Havadaki PM tipik olarak farklı boyutlu maddelerden oluşur. İnce PM, aerodinamik çapı $2.5\ \mu\text{m}$ veya daha az ($\text{PM}_{2.5}$), kaba PM aerodinamik çapı ise $2.5\ \mu\text{m}$ 'den büyük $10\ \mu\text{m}$ 'den küçüktür ($\text{PM}_{2.5-10}$). Şehir içindeki evlerde iç mekan PM konsantrasyonlarının, şehir dışı evlerdeki konsantrasyonlardan iki kat daha yüksek olduğu gösterilmiştir. $\text{PM}_{2.5}$ ve PM_{10} için en yaygın iç mekan kaynakları sigara ve soba kullanımıdır (37,38).

2.4.2.5. Mikroorganizmalar

Hava yolu ve bağırsak mukozası bakteriyel kolonizasyonu, savunma mekanizmasında önemli bir rol oynamaktadır. Viral ve bakteriyel enfeksiyonlar astım patogeneğinde önemli faktörlerdir. Astımlı hastalar, bozulmuş mukozal ve sistemik immün savunma ve atopinin bir sonucu olarak viral ve bakteriyel enfeksiyonlara daha duyarlı olmaktadır (39). Viral enfeksiyonlar, üst ve alt solunum yolu enfeksiyonlarının (ÜSYE ve ASYE) en yaygın nedenidir. Çocuklarda solunum yolu enfeksiyonlarına neden olan en yaygın olarak tanımlanan virüsler, *Human Rinovirüs*, *Respiratory syncytial virus (RSV)*, *İnfluenza* ve *Parainfluenza virüsleri*, *Koronavirüs*, *Adenovirüs*, *Human metapnömovirüs* ve *Bocavirüs*'tür. Erken viral ASYE ile çocukluk çağı hırıltılı solunumu ve astım gelişimi arasında bir ilişki vardır (40, 41, 42, 43, 44). Çocukluk çağı astım vakalarının yaklaşık %13'ü RSV sezonunda alt solunum yolu enfeksiyonu geçirmeye atfedilmiştir (45).

2.4.2.6. Hijyen hipotezi

Hijyen hipotezi, son on yılda sanayileşmiş dünyada artan astım ve alerjik hastalık insidansını gösteren büyük epidemiyolojik çalışmalara dayanarak ortaya atılan bir hipotezdir. Bu çalışmalara göre; çocukluk çağı enfeksiyonları ve mikrobiyal antijenlere maruz kalma, alerjilerle güçlü bir negatif korelasyon oluşturmaktadır. Bu nedenle Batı dünyasında alerjik yükün artması, sıklıkla çocukluk çağı enfeksiyonlarının azalmasıyla ilişkilendirilerek “hijyen hipotezi” ortaya atılmıştır. Artan antibiyotik kullanımı, gelişmiş hijyen ve kentleşme çocuklukta daha önce yaygın görülen enfeksiyonlara, çeşitli çevresel mikroorganizmalara ve bunların ürünlerine maruz kalma olasılığını muhtemelen azaltmıştır. Bu olaylar, mikrobiyolojik çeşitlilik ve atopik hastalık arasında ters bir ilişki olduğunu düşündürmektedir (46,47).

Yaşamın erken dönemlerinde geçirilen enfeksiyonlara bağlı oluşan Th1 yönelimli bağışıklık yanıtı olmayanlarda Th2 alerjik fenotipinin erken, uzun süreli ve dengesiz ifadesi gelişebilir. Alerjik duyarlanmadan önce patojene maruz kalmanın azalmış hava yolu iltihabı ile sonuçlandığı deneylerle gösterilmiştir (48).

2.4.2.7. Mikrobiyota

Farklı mekanizmalar sonucu akciğer ve bağırsak mikrobiyotası astım gelişiminde önemli rol oynar. Hem prenatal dönemde hem de hayatın ilk yıllarında mikrobiyatanın içeriği, çeşitliliği ve işlevleri, diyet ve çevre koşulları gibi birçok faktörle belirlenmektedir. Yaşamın erken döneminde mikrobiyatada oluşan değişikliklerin astım gelişimini etkileyebileceği düşünülmektedir. Mikrobiyomun astımdan koruma mekanizmaları, doğrudan antiinflamatuvar etki veya belirli bakteri kolonileri tarafından tip 2 dışı inflamasyonun uyarılmasıdır. Astımlı hastalarda solunum mikrobiyomunun sağlıklı insanlara kıyasla daha düşük bakteriyel çeşitlilik içerdiği bilinmektedir (49).

2.4.2.8. Mesleki Risk Faktörleri

Çalışma ortamı, astım gelişimi ve hastalık alevlenmesi açısından önemli bir potansiyel risk faktörüdür. Mesleki astım (OA), genellikle eksik tanı konulan ve eksik bildirilen bir astım biçimidir ve tanınmadığında hastalığın ilerlemesine ve morbiditenin artmasına neden olabilir. Geleneksel olarak, mesleki astıma karşı hassaslaştırıcılar, yüksek moleküler ağırlıklı bileşikler (HMW) ve düşük moleküler ağırlıklı bileşikler (LMW) olarak ikiye ayrılır. HMW ajanları arasında un tozu, enzimler (bitki ve hayvandan elde edilen), sakızlar, gıdalar, tütün, kauçuk türevi proteinler, hayvanlardan elde edilen ve böceklerden türetilen alerjenler bulunmaktadır. LMW ajanları arasında batı kırmızı sediri, poliizosiyanatlar ve bunların polimerleri, asit anhidritler, metaller ve çeşitli kimyasal maddeler yer almaktadır (50,51).

2.4.2.9. Diyet

Potansiyel antioksidan etkiye sahip gıdalar açısından zengin bir beslenme düzeni, astım kontrolünü iyileştirmede önemli bir etkiye sahiptir. Astımda antioksidan takviyesini inceleyen çalışmalar, magnezyum takviyesi ile astım kontrolünde iyileşmeler, C vitamini takviyesiyle de akciğer fonksiyonunda daha az düşüş olduğunu göstermiştir. Yağ asidi takviyesinin astım kontrolü ve akciğer fonksiyonunun iyileştirilmesi üzerindeki etkileri gösterilmiştir. Propolis ve kafein

kullanımının incelendiği çalışmalarda, FEV1'de önemli artışlar olduğu bildirilmiştir (52). Hazır mamalarla beslenen çocuklarda, anne sütüyle beslenen çocuklara göre daha yüksek oranlarda hışıltılı solunum ortaya çıktığı bilinmektedir (53).

2.5. Astım İmmünopatogenezi

Astımın en karakteristik özelliği, hava yolu lümeninin daralması ile ilişkili olan geri dönüşümlü ve değişken hava yolu obstrüksiyonudur. Hava yolu daralmasının en önemli sebepleri, eozinofil, nötrofil, lenfosit ve makrofaj gibi hücrelerin rol aldığı hava yolunda gelişen kronik inflamasyon ve ödemdir. Sonuçta “hava yolu aşırı duyarlılığı” gelişir ve normalde zararsız olan bir uyararla bile hava yollarında düz kas kontraksiyonu oluşur. Hava yolu aşırı duyarlılığının mekanizmasında, birkaç hipotez ileri sürülmüştür:

- Hava yolu düz kas hücrelerinin artmış hacim ve/veya kontraktilesi,
- Hava yolu-parankim etkileşiminin kaybı,
- İnflamasyon nedeniyle duyarlı hale gelen duyuşal sinirlerin duyuşal uyarılara cevap olarak aşırı bronkokonstriksiyona neden olması,
- Hava yolundaki inflamasyon ve yapısal değişikliklere ek olarak hava yolunun düz kas kontraksiyonu nedeniyle aşırı derece daralması.

Bu durum bronkodilatör tedavi ile geri dönüşlüdür. Hava yollarında bulunan mukus ve hava yolu remodelingi persistan hava akımı obstrüksiyonuna neden olmaktadır. Astımda hava yolu inflamasyonu tüm trakeobronşial ağaç boyunca görülür ve patofizyolojiyi belirleyen ise çeşitli çaptaki hava yollarının değişen derecelerdeki obstrüksiyonudur. Büyük hava yollarındaki obstrüksiyon hava akım kısıtlanmasına yol açarken, küçük hava yollarındaki obstrüksiyon ise düşük akciğer volümlerinde hava yolunun kapanmasına ve birçok olguda rezidüel volüm artışına, dolayısıyla hiperinflasyona neden olmaktadır (1). Soğuk hava ve egzersiz gibi uyarılar, aşırı mukus üretimi, hava yolu daralması ve hava yolu duvarının remodelingine neden olmaktadır. Duyarlı hastalarda bu durum, tekrarlayan nefes darlığı, hırıltılı solunum ve göğüste sıkışmaya yol açmaktadır. Alerjik astımı olan hastalarda aynı anda alerjik rinit de vardır (54).

Bütün kronik inflamatuvar hastalıklarda olduğu gibi, astımın sadece iki klinik forma bölünmesinin aşırı basitleştirme olduğu düşünülmektedir. Her biri farklı bir patofizyolojiye sahip olan farklı astım fenotipleri artık astım endotipleri olarak tanımlanmaktadır. Endotipler, genetik yatkınlık, çevresel risk faktörleri, başlangıç yaşı, klinik görünüm, prognoz, standart ve yeni tedavilere yanıt açısından farklılıklar göstermektedir (55). Sigara içen astımlı kişilerde kronik obstrüktif akciğer hastalığı ile önemli ölçüde klinik örtüşme vardır (56). Atopik astımda, eozinofilik hava yolu inflamasyonu ve bronş hiperreaktivitesi (BHR) vardır.

2.5.1. Astım İmmünopatogenezinde Rol Oynayan Hücreler

Mast hücreleri aktif mukozal mast hücreleri bronkokonstrüktör mediyatörlerin (histamin, sisteinil lökotrienler, prostoglandin D2) salınımına sebep olur. Bu hücreler alerjenler tarafından yüksek afiniteli IgE reseptörleri aracılığı ile aktive edilir. Ayrıca egzersizle indüklenen bronkokonstrüksiyonda olduğu gibi ozmotik uyarılarla da indüklenebilirler. Artmış mast hücreleri hava yolu aşırı duyarlılığı ile ilişkilidir. Astımda mukozal mast hücreleri sadece sayısal olarak artmaz, granül salgılanmasını da artırır (9).

Eozinofiller hava yollarında artmış sayıda bulunur. Eozinofiller hava yolu epitel hücrelerine zarar verebilecek çeşitli proteinlerin salınımına sebep olurlar. Ayrıca büyüme faktörlerinin salınımında ve hava yolunun yeniden yapılanmasında da rol oynadıkları düşünülmektedir (9).

T lenfositler hava yollarında artmış sayıda bulunur, IL-4, IL-5, IL-9 ve IL-13 gibi spesifik sitokinlerin salınımını sağlarlar. Th2 hücrelerindeki artış Treg hücrelerindeki azalmaya bağlı olabilir. Astımda ayrıca doğal öldürücü [natural killer (NK)] T hücrelerinde de bir artış vardır (9).

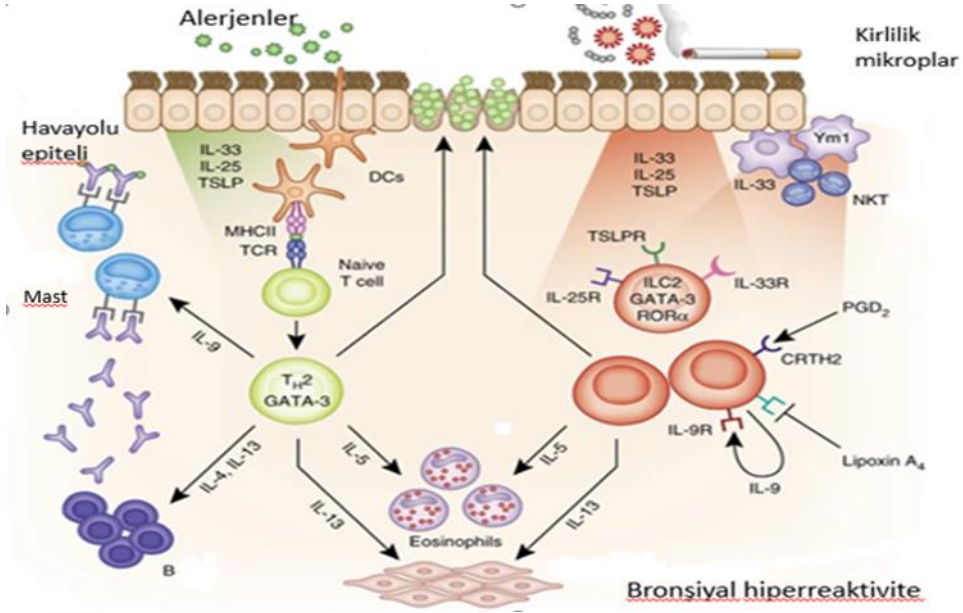
Dendritik hücreler alerjenleri hava yolu yüzeyinden alır ve lenf nodlarına taşırlar. Burada Treg hücreleri ile iletişime geçerek, naif T hücrelerinden Th2 sitokinlerinin salınımını uyarırlar (9).

Makrofajlar hava yollarında artmış sayıda bulunurlar, düşük afiniteli IgE reseptörleri aracılığıyla alerjenler tarafından aktive edilerek inflamatuvar mediyatörlerin salınımına sebep olurlar (9).

Nötrofiller ağır astımlıların ve sigara içen astımlıların balgamlarında ve hava yollarında artmış sayıda bulunurlar. Bu hücrelerin patofizyolojik rolleri belirsizdir. Glukokortikoid tedaviye bağlı olarak da sayıları artabilir (9).

Hava yolu epitel hücreleri kemokinler, lipid mediyatörler ve sitokinler gibi çeşitli inflamatuvar proteinlerin salınımını sağlarlar. Virüsler, alerjenler ve hava kirleticileri, epitel hücreleri ile etkileşim halindedir. Bronşiyal epiteldeki hasar kronik astımın karakteristik kanıtıdır. Epitelyal hasar bazal hücrelerden kolumnar hücrelerin ayrılmasına rol açar. Hava yolu düz kas hücreleri benzer inflamatuvar proteinlerin epitel hücrelerine salınımını sağlar. Endotel hücreleri inflamatuvar hücrelerin dolaşımından çıkıp hava yolunda toplanmalarında rol oynar. Fibroblast ve miyofibroblastlar hava yolu yeniden yapılanmasında rol oynayan kollajen ve proteoglikan gibi bağ doku komponentlerini üretirler. Hava yolu sinirlerinden kolinerjik sinirler hava yolundaki refleks tetikleyiciler aracılığıyla aktive olup, bronkokonstriksiyon ve mukus sekresyonuna sebep olabilirler (57).

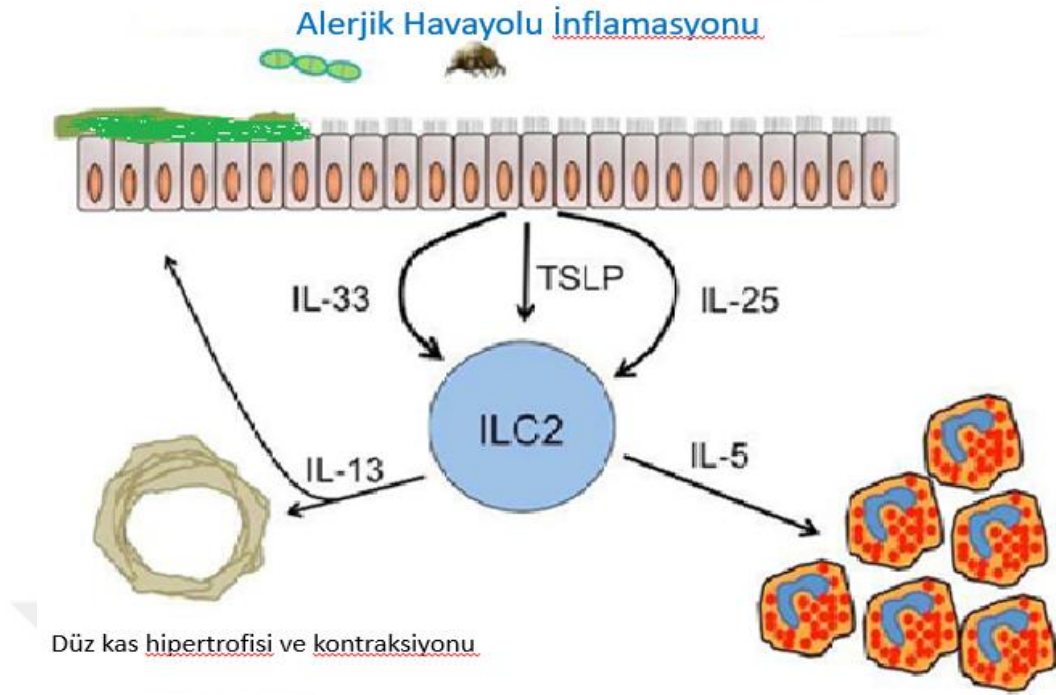
IL-33 ağırlıklı olarak epitel hücreleri, fibroblastlar ve endotelyal hücreler tarafından eksprese edilir. Ekspresyonu mast hücreleri ve dendritik hücrelerle uyarılmaktadır. IL-33 lokal ve sistemik bağışıklığı uyaran sitokin ve büyüme faktörleri üretmek üzere hücreleri uyarır (58). IL-25, havayolu epitel hücreleri, Th2 hücreleri, mast hücreleri, bazofiller ve eozinofiller gibi alerjik yanıtlarda rol oynayan hücreler tarafından eksprese edilir. IL-25, IL-17 ailesinin bir üyesidir ve aynı zamanda IL-17E olarak da bilinir. IL-4, IL-5 ve IL-13 dahil olmak üzere Th2 sitokinlerinin ekspresyonu ve salınımını sağlar. IL-5, fonksiyonel eozinofillerin üretimini uyarmaktadır (59). IL-13 IL-6, IL-1 β , TNF- α ve IL-8'in baskılanmasında IL-4'e benzer özelliklere sahip, T lenfositler tarafınca üretilen bir sitokindir (Şekil 2.1) (54,60).



Şekil 2.1. Eozinofilik havayolu inflamasyonunda rol oynayan sitokinler (Lambrecht'den, 54)

TSLP, IL-2 sitokin ailesinin bir üyesidir. Epitel hücreleri, keratinositler ve stromal hücreler tarafından alerjik inflamasyon sırasında eksprese edilmektedir. TSLP'nin Th2 farklılaşmasına neden olduğu bilinmektedir (61). Mast hücreleri ve eozinofillerin tümü TSLP stimülasyonuna yanıt olarak sitokin üretimini artırır (Şekil 2.2) (58).

Tip 2 doğal lenfoid hücreler (ILC2), konakçının patojenlere, özellikle de helmintlere karşı bağışıklık tepkilerini yöneten, dokularda bulunan doğal bir lenfoid alt kümesidir. ILC2'nin bulunduğu dokular; cilt, solunum ve bağırsak yollarının mukozal yüzeyleridir. ILC2, birçok lenfosit özelliğine sahiptir, ancak antijen reseptörlerinden yoksundur. Bu hücreler IL-33, IL-25 ve TSLP tarafından aktive edilir. İn vivo deneyler, akciğerde ILC2'nin proteaz maruziyetine yanıt olarak hızla arttığını ve kritik bir role sahip olduğunu ortaya koymaktadır. ILC2, IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 gibi CD4 Th2 hücrelerine çok benzer bir sitokin profili üretir (62).



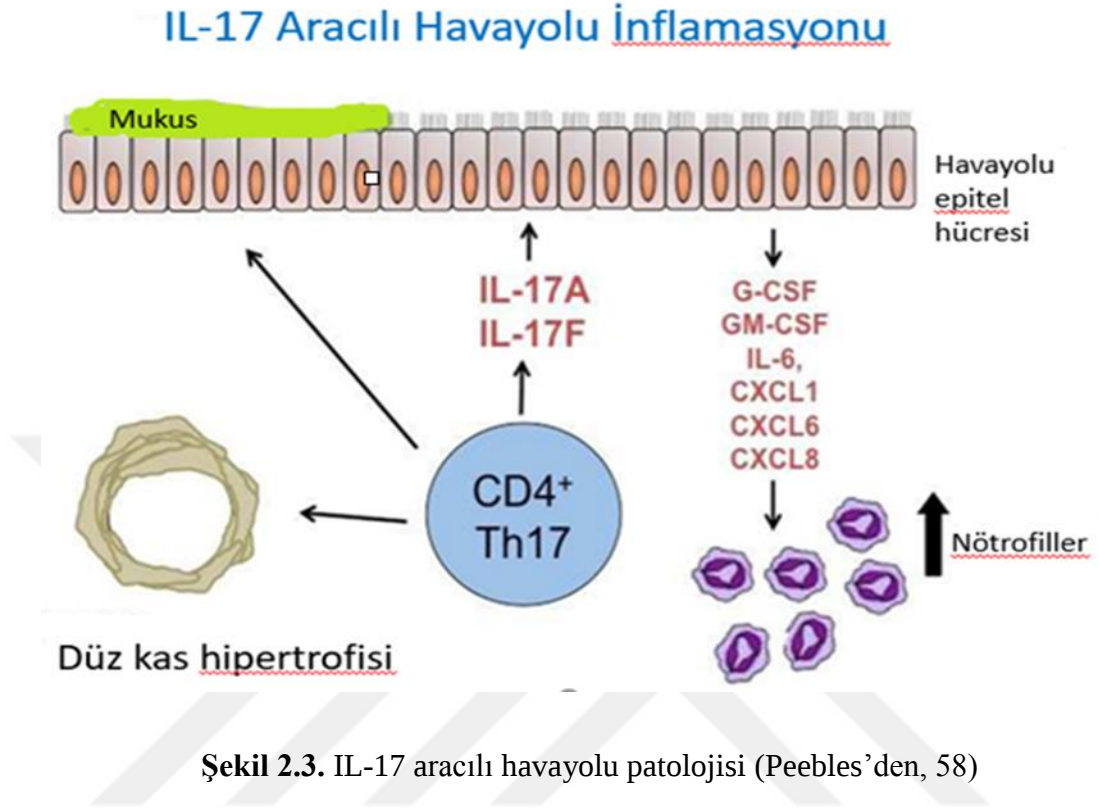
Şekil 2.2. Doğuştan gelen alerjik havayolu inflamasyonu (Peebles'den, 58)

2.5.2. Astımda Th17 ve IL-17

Astım, büyük ölçüde Th2 aracılı hastalığın klasik bir örneğidir ancak Th1 ve Th2 hücrelerinden başka Treg ve Th17 alt gruplarının da astım immünolojisinde önemli olduğu düşünülmektedir. Th17 hücreleri özellikle ekstraselüler bakteriler ve mantarlara karşı immün yanıtta önemlidir, otoimmün hastalıklarla da ilişkisi gösterilmiştir. Th17 hücreleri tarafından salınan IL-17A'nın astım patogeneğinde özellikle de ağır persistan astımda önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir (63,64).

Şiddetli astım artmış IL-17 üretimi ile ilişkili bir alt kümedir. Antiinflamatuar transforming growth faktor (TGF) ile birlikte proinflamatuar IL-6, Th17 hücrelerine farklılaşmayı indüklemektedir. IL-17'nin astımda hava yolu inflamasyonundaki kesin rolü hala belirsizliğini korumaktadır. IL-17 solunum yollarında, ağırlıklı olarak nötrofilik hava yolu inflamasyonuna neden olmaktadır. Goblet hücre hiperplazisi, miyofibroblast farklılaşması ve hava yolu düz kas proliferasyonunu uyarmaktadır. IL-17, epitel hücreleri, fibroblastlar ve hava yolu düz kas hücrelerini aktive ederek hava yolu remodelingini destekler (Şekil 2.3) (58).

Kortikosteroid dirençli ağır astım hastalarının Th17 ve IL-17 seviyelerinin arttığı gösterilmiştir (64,65).



2.5.3. Astımda Treg Hücreleri

Treg hücreleri, zararsız antijen ve alerjenlere karşı toleransı sürdürmek için bağışıklık tepkilerini dengelemede anahtar bir rol oynamaktadır. Treg hücreleri aşırı bağışıklık tepkilerini baskılayarak tolerans ve hemostazın sürdürülmesi için önemlidir (66). Treg hücrelerinin görevi, inflamasyonlu bölgelere göç etmek ve çeşitli efektör lenfositleri, özellikle Th hücre alt kümelerini (Th1, Th2, Th17 ve foliküler Th) baskılamaktır (67). Astım immünolojisinde rol alan T hücre alt gruplarının birbiri ile etkileşimlerinin tümüyle ortaya konması astım tanı ve tedavisinde önemli bir gelişme sağlayacaktır.

2.5.4. Astımda Araşidonik Asit Metabolizması

Araşidonik asit metabolizması dört farklı yolak üzerinden yürür: siklooksijenazlar (COX-1, COX-2), lipoksijenazlar (5-LO, 15-LO ve 12-LO),

sitokrom oksidazlar (hidrolaz, epoksijenaz) ve nonenzimatik yolak. Araşidonik asit metabolizmasındaki dört yoldan ilki olan siklooksijenaz yolağı prostaglandinlerin, prostasiklinin ve tromboksanın sentezini sağlar. İkinci yolak lökotrienlerin, lipoksinlerin, eoksinlerin ve hepoksilinlerin sentezini sağlar. Üçüncü yolak sitokrom p450 yolağı olup araşidonik asiti hidroksi veya epoksi-eikosa-tri enoik asitlere çevirir. Son olarak da nonenzimatik yolak araşidonik asitin serbest radikaller veya reaktif oksijen türevlerince perokside olmasıyla izoprostanların ve hidroksieikosatetraenoik asitlerin (HETE) oluşumu ile ilişkilidir (68). Astımlılarda lipit mediatörler ve lökotrienler, alerjenle karşılaştıktan dakikalar sonra üretilir. Araşidonik asit metabolizmasında siklooksijenaz yolu ile prostaglandinler (PGD₂, PGF_{2a}) ve tromboksan oluşur. Bunlar bronkokonstriksiyon ile ilişkilidir. Lipooksijenaz enzim yolu ise sistenil lökotrienlerin (LTB₄, LTC₄, LTD₄ ve LTE₄) üretimini sağlar. LTB₄, alveoler makrofajlar ve nötrofillerde üretilen majör lipooksijenaz ürünüdür. Sistenil lökotrienler bronş düz kasında kasılmaya, sekresyonlarda artışa ve mikrovasküler dolaşımında damar dışına plazma sızmasına neden olur. Bu durum bronş aşırı duyarlılığına neden olmaktadır. LTE₄ inhalasyonunun eozinofilik inflamasyona neden olduğu gösterilmiştir (69). Araşidonik asit metabolizması sonucunda ortaya çıkan eikosonoidler, hava yolu tonusu ve inflamasyonunu düzenlemektedir (68,69).

2.5.5. Astımda Rol Oynayan Diğer Mediyatörler

IL-1 β ve Tümör nekroz faktör- α (TNF- α); inflamasyonda, granülosit makrofaj koloni stimulating faktor (GM-CSF) eozinofillerin yaşam süresinin uzamasında etkilidir. Histamin mast hücrelerinden salınır, bronkokonstrüksiyon yapar ve inflamasyona katkıda bulunur. Nitrik Oksit (NO) potent bir vazodilatatördür. Hava yolu epitel hücrelerindeki nitrik oksit sentazın aktivasyonu ile üretilir (57).

2.5.6. Astımda Hava Yolu Yeniden Yapılanması

Astım hastalarının hava yollarında inflamatuvar yanıtı ek olarak, hava yolu yeniden yapılanması (remodelling) olarak adlandırılan karakteristik yapısal değişiklikler olmaktadır. Bu değişikliklerin bir kısmı astımın ağırlığı ile ilişkilidir ve

hava yollarında geri dönüşümsüz darlıkla sonuçlanabilir (1). Kronik inflamasyon ve remodeling histolojik özellikleri; makrofajlar ve lenfositler tarafından infiltrasyon, miyofibroblast şeklini alabilen fibroblastların çoğalması, anjiyogenez, artan bağ dokusu (fibroz), doku tahribatıdır (70).

2.6. Astımda Fenotip ve Endotip

Astımda fenotip astım hastasının temel gözlenebilir özelliklerini tanımlarken, endotip altta yatan hücresel ve patofizyolojik mekanizmayı açıklamaktadır (Tablo 2.1) (71).

Tablo 2.1. Klinik ve fizyolojik özelliklerine göre fenotipler (Wenzel'den, 71)

Şiddetine göre astım
Atak eğilimine göre astım
Kronik hava yolu obstrüksiyonuna göre astım
Tedaviye direncine göre astım
Başlama yaşına göre astım
Tetikleyici faktörlere göre fenotipler Aspirine duyarlı astım Alerjik astım Mesleksel astım Menstrüel astım Egzersizle tetiklenen astım
İnflamatuvar özelliklerine göre fenotipler Eozinofilik astım Nötrofilik astım Pauci-granülositik astım

2.6.1. Alerjik Astım

Alerjik astım, en yaygın astım fenotipidir. Genellikle çevresel alerjenlere karşı duyarlılığın varlığı ile tanımlanır. Alerjik astımın ortalama başlangıç yaşı, alerjik olmayan astıma göre daha erkendir. Alerjik astım spektrumu hafiften şiddetliye değişiklik göstermektedir. Alerjik astımı olan hastalarda artmış bir alerjik rinokonjonktivit ve atopik dermatit prevalansı vardır. Toplam IgE düzeyleri genellikle alerjik astımda alerjik olmayan astıma göre daha yüksektir. Alerjik astımı olan hastaların salgılarında ve periferik kanında artmış Th2 sitokinleri gösterilmiştir (72).

2.6.2. Aspirinle Tetiklenen Solunum Yolu Hastalığı

Bazı astımlı bireylerde, aspirin ve siklooksijenaz 1'i (COX-1) inhibe eden nonsteroid antiinflatuvar ilaçlar (NSAID) durumu şiddetlendirir. Aspirin kaynaklı astım (AIA) olarak adlandırılan bu farklı klinik sendrom, eozinofilik rinosinüzit, nazal polipler, aspirin duyarlılığı ve astım ile karakterizedir (73).

2.6.3. Enfeksiyonla Tetiklenen Astım

Astımın sıklıkla bulaşıcı enfeksiyon ajanları tarafınca şiddetlendiğine dair çok sayıda kanıt vardır. Astımın başlangıcında ve alevlenmesinde birkaç virüs suçlanmıştır. Son zamanlarda dikkatler, astım alevlenmelerini tetikleyen atipik bakteriler *Mycoplasma pneumoniae* ve *Chlamydia pneumonia* enfeksiyonlarının rolüne yönelmiştir (74).

2.6.4. Egzersizle Tetiklenen Astım

Egzersize bağlı astım (EIA), astım tanısı alan kişilerde yaygındır ve %80 ile %90'ı egzersiz sırasında astım semptomları yaşar. EIA obezite ile ilişkilendirilmiştir ve obezite yetişkinlerde başlayan astım için bir risk faktörü olabilir (75).

2.6.5. Eozinofilik Astım

Eozinofilik astım, sürekli olarak yükselen kan eozinofilleri, yetişkinlikte başlayan astım ve kortikosteroid direnci ile karakterizedir (76). Eozinofilik astımın Th2 kaynaklı bir hastalık olduğu öne sürülmüştür ancak ortaya çıkan kanıtlar, ILC2'lerin merkezi bir rolü olduğunu desteklemektedir (77). Eozinofilik astım geç yaşta ortaya çıkar. Hastaların çoğu düşük kilolu, aspirine duyarlı hastalardır. Çoğunda nazal polip vardır. Balgamda eozinofil oranı %2 ve üstündedir (78).

2.6.6. Nötrofilik Astım

Nötrofiller şiddetli astım patogeneğinde önemli bir rol oynamaktadır. IL-8 bu sürece dahil olur ve hastaların hava yollarında artar. IL-8 ile uyarılan nötrofillerin, şiddetli astımda kortikosteroid direncine ve hastaların hava yollarında eozinofillerin birikmesine neden olduğu düşünülmektedir. Birkaç çalışma, IL-17'nin IL-8 artışından sorumlu olduğunu düşündürmektedir. Nötrofilik astımda kortikosteroid tedavisine yanıt kötüdür, makrolid antibiyotiklerle tedaviye yanıt vardır (78,79).

2.6.7. İrreversibl Hava Yolu Obstrüksiyonuyla Seyreden Astım

Bu grup astımın önemli fenotiplerinden birisidir. Hastaların FEV1/FVC oranı yaşlarına ve kendi en iyi değerlerine göre düşüktür. FEV1 değeri inhale steroid tedavisi ve kısa etkili bronkodilatör inhalasyonu sonrasında bile %90'ın altındadır (78).

2.7. Astım Tanısı

Doğru bir astım tanısı koymak, astım tedavisini ve sonuçlarını iyileştirmek için çok önemlidir. Astımı doğru şekilde teşhis etmek zordur. Yanlış tanı, maliyetli, potansiyel olarak zararlı tedaviye ve gereksiz sağlık bakımına yol açarken, yetersiz teşhis, yetersiz tedavi ve önlenabilir morbidite riskine sahiptir. Astım, farklı genotipler, endotipler ve fenotipler içeren heterojen bir hastalıktır. Teşhisi kategorik olarak doğrulayabilecek veya çürütebilecek "altın" referans standardı yoktur. Bu nedenle astım klinik bir tanıdır, ancak bireysel semptomlar, belirtiler ve testler tanı

için zayıf duyarlılığa ve özgüllüğe sahiptir. Astım çok yaygın bir hastalık olduğu için, teğhislerin çoğu objektif testlere erişimin sınırlı olduğu birinci basamakta konulmaktadır (80,81).

2.7.1. Anamnez

Astım tanısında, nöbetler halinde olan nefes darlığı, hışıltılı solunum, öksürük ve göğüste sıkışma hissi gibi semptomların varlığı önemlidir. Hastanın öyküsünde çocukluk çağında egzema, besin alerjisi rinit ve astım hikayesi olması erişkin dönemde astım gelişimi ile ilişkili olması nedeni ile tanıyı desteklemektedir. Hastalar, eşlik edebilecek rinit, polip, sinüzit, gastroözefagial reflü, ilaç alerjisi (zellikle analjezik), uyku apnesi, obezite ve psikolojik bozukluklar yönünden de sorgulanmalıdır. Astım, birçok yaygın hastalıktan daha yüksek ailesel risk gösterir. Ailede astım öyküsü ve atopik hastalık varlığı tanıyı koymaya yardımcı olan diğer faktörlerdir (2).

2.7.2. Fizik Muayene

Fizik muayene hasta semptomatik olmadıkça, genellikle normaldir (81). Fizik muayenenin normal olması astım tanısını dışlamaz. En sık rastlanan muayene bulgusu hava yolu obstrüksiyonunu gösteren hışıltı ve ronkslerdir. Solunum sesleri normal bulunan bazı hastalarda oskültasyon sırasında zorlu ekspirasyon yaptırılırsa ronküs işitilebilir. Anamnez ve fizik muayene sırasında hemen her derin inspirasyondan sonra öksürük gelişmesi, hava yolu duyarlılığının indirekt göstergesidir ve astımı düşündürür. Astım ataklarındaki hiperinflasyon ve hava akım kısıtlaması solunum işini belirgin düzeyde artırır. Ciddi astım ataklarında ileri derecede azalmış ventilasyon ve hava akımı nedeniyle ronküs ve hışıltı duyulmayabilir. Bu durumdaki hastalarda atağın ciddiyetini gösteren siyanoz, uykuya meyil, konuşma güçlüğü, taşikardi, yardımcı solunum kaslarının kullanımı ve interkostal çekilmeler gibi diğer fizik muayene bulguları gözlenir. Astımlı hastaların büyük çoğunluğunda rinit görülebildiğinden, fizik muayene sırasında rinit, geniz akıntısı ve nazal obstrüksiyon bulguları açısından st solunum yolu muayenesinin de yapılması önemlidir (1).

Tablo 2.2. Astım tanı kriterleri (GINA'dan, 2)

1.Değişken solunumsal semptom hikayesi, Hışiltılı solunum, nefes darlığı, göğüste sıkışıklık hissi ve öksürük, Tanımlamalar toplumun kültürel yapısına ve yaşa göre değişiklik gösterebilir. Genellikle birden çok solunum semptomu vardır. Semptomların sıklığı ve şiddeti zaman içerisinde değişiklik gösterir. Semptomlar gece veya sabah uyanınca kötüleşir. Semptomlar genellikle egzersiz, gülme, alerjen, soğuk hava ile tetiklenir. Semptomlar genellikle viral infeksiyonlardan sonra ortaya çıkar veya kötüleşir.
2.Değişken hava akımı kısıtlanmasının doğrulanması -Solunum fonksiyonlarında değişkenliğin gösterilmesi, (aşağıdaki testlerden biri veya birkaçı ile) hava akımı kısıtlanmasının gösterilmesi, değişiklik ne kadar yüksek oranda veya ne kadar fazla sayıda izlenirse tanı o kadar güvenle konabilir. Tanısal süreç sırasında en az bir kez FEV1 düşüklüğü ve FEV1/FVC de azalmanın tespit edilmesi (normal>0.75-0.80) • Pozitif reverzibilite testi (testten önce bronkodilatör tedavi kesilirse pozitif bulunma şansı artar: SABA ≥ 4 saat, LABA ≥ 15 saat): 200-400mcg salbutamol veya eşdeğerinden 10-15 dk sonra FEV1'de başlangıç değerine göre>%12 ve 200 ml artış (>%15 ve >400 ml ise tanı daha kesin) • İki hafta boyunca günde iki kez yapılan PEF tetkikinde değişiklik. Ortalama günlük PEF değişkenliği>%10 • Solunum fonksiyonlarında 4 hafta süre ile verilen antiinflamatuvar tedavi sonrası anlamlı düzelme. Solunum yolu infeksiyonu olmadan 4 hafta tedaviden sonra FEV1 değerinde bazale göre>%12 ve >200 ml artış (veya PEF değerinde>%20 artış) • Pozitif egzersiz provokasyon testi: FEV1'de bazale göre>%10 ve 200 ml düşüş • Pozitif bronş provokasyon testi: Standart metakolin veya histamin dozları ile FEV1'de$\geq$%20 veya standardize hiperventilasyon, hipertoniksalin veya mannitol sonrasında $\geq$%15 düşme • Klinik kontroller sırasında solunum fonksiyonlarında değişiklik (daha az güvenilir) solunum yolu infeksiyonu olmadan FEV1'de kontroller arasında>%12 ve >200 ml değişiklik

*SABA: Kısa etkili beta agonist, LABA: Uzun etkili beta agonist, FEV1: Zorlu ekspiratuvar 1. saniye volümü, FVC: zorlu vital kapasite, PEF: Zirve ekspiratuvar akım hızı

2.7.3. Spirometri

Spirometri, ekspiratuvar hava yolu obstrüksiyonunun doğrulanması için kullanılır ve akciğer fonksiyonunu değerlendirmek ve maksimum inspirasyondan

sonra kişinin akciğerlerden dışarı atabildiği hava hacmini ölçmek için kullanılır. Spirometri ile ölçülebilen akciğer fonksiyonu ölçümleri arasında tepe ekspiratuvar akım hızı (PEF), bir kişinin bir nefeste akciğerlerinden zorla soluyabileceği toplam hava hacmi olan zorlu vital kapasite (FVC) ve 1. saniyedeki zorlu ekspiratuvar hacim (FEV1) bulunur (82). Astım tanısı için hava yolu obstrüksiyonu kanıtı gereklidir. Obstrüksiyonu belgelemek için 1. saniyede zorlu ekspiratuvar hacmin azalması ve zorlu vital kapasiteye oranı (FEV1/FVC oranı) kullanılır. Yetişkinlerde obstrüksiyon, FEV1/FVC oranındaki azalma ile tanımlanır ve 0.70'ten daha düşük bir FEV1/FVC oranı hava yolu obstrüksiyonunu gösterir (83).

Astım, hava yolu obstrüksiyonundaki değişkenlikle karakterize olduğundan, obstrüksiyon hastada her zaman mevcut olmayabilir. İdeal olarak FEV1/FVC oranı, FEV1'in düştüğü bir zamanda değerlendirilmelidir. Bu nedenle, azalmış FEV1/FVC oranının yokluğunda astım için klinik bir şüphe devam ederse ve diğer tanılar dışlanmışsa, spirometri başka bir durumda tekrarlanmalıdır (82).

2.7.4. Ekspiratuvar Hava Yolu Obstrüksiyonunda Değişkenliğin Gösterilmesi

Spirometri ile hava yolu obstrüksiyonu doğrulandıktan sonra, hava yolu obstrüksiyonunda değişiklik olduğu belgelenmelidir. Akciğer fonksiyonunun günlük, haftalık veya aylık olarak izlenmesi, bazı hastalarda hava yolu obstrüksiyonu değişkenliğini gösterebilir.

2.7.4.1. Erken Reverzibilite Testi

Solunum fonksiyon testinde (SFT) pozitif reverzibilite testi astım lehine bulgudur, 200-400 mcg salbutamoldan 10-15 dakika sonra FEV1'de başlangıç değerine göre $>12\%$ ve 200 ml artış ($>15\%$ ve >400 ml ise tanı daha kesin) olması testin pozitif olduğu anlamına gelir (2).

2.7.4.2. Tepe Ekspiratuvar Akım Hızı (PEF) Değişkenliği

Tepe akımını ölçer bir cihaz olan PEFmetre kullanılır. Hastaya, pik-akış ölçerin doğru kullanımı hakkında eğitim verilir ve sabah-akşam, 1-2 hafta boyunca aynı ölçüm cihazı ile evde ölçümleri tamamlaması istenir. Bu değerler hasta tarafından kaydedilir ve klinisyen tarafından incelenir. Değişkenliği belirlemek için kullanılan formül, günün en yüksek PEF'i eksi günün en düşük PEF'i olarak hesaplanan, gün içi ortalama PEF'e bölünen ve ardından bir hafta boyunca ortalaması alınan "günlük ortalama değişkenlik" tir. Yetişkinlerde %10'un üzerinde değişkenlik, değişken ekspiratuvar hava yolu obstrüksiyonunun göstergesidir (2,82).

2.7.4.3. Solunum Fonksiyonlarında Değişkenlik (Geç Reverzibilite Testi)

Dört hafta süre ile verilen antiinflamatuvar tedavi sonrası anlamlı düzelme olmasıdır. Solunum yolu enfeksiyonu olmadan dört haftalık tedaviden sonra FEV1 değerinde bazale göre >%12 ve >200 ml artış (veya PEF değerinde >%20 artış) olmasıdır (2).

2.7.5. Hava Yolu Aşırı Duyarlılık Testleri (Bronş Provokasyon Testleri)

Semptomların astımı düşündüğü fakat solunum fonksiyonlarının normal olduğu hastalarda metakolin, histamin, adenozin, mannitol veya egzersiz ile bronş provokasyonu astım tanısının konulmasına yardımcı olabilir (1). Bu testin eğitimli personel tarafınca yapılması gereklidir ve FEV1 < %70 ise yapılması tercih edilmez (2).

Hava yolu aşırı duyarlılığı, hava yollarının sağlıklı kişileri etkilemeyecek kadar küçük miktarlardaki iritanlara karşı aşırı bronkokonstriktif yanıt vermesi demektir. Test sonucu genellikle FEV1'de başlangıca göre %20 veya daha fazla azalmaya neden olan doz (veya konsantrasyon) olarak ifade edilir (1,81).

2.7.6. Ekshale Nitrik Oksit Testi (FeNO)

Ekshale nitrik oksit (FeNO) ve karbon monoksit düzeyi ölçümlerinin de astımda inflamasyon belirtici olarak kullanılabileceği belirtilmektedir (84). FeNO

başka durumlarda da (örn. alerjik rinit, eozinofilik bronşit, eozinofilik fenotipli KOAH) yükselebilir. FeNO sigara içenlerde baskılanır. İnhaler kortikosteroid tedavisi gören astım hastalarında normal FeNO olabilir (81).

2.7.7. Kan Eozinofilleri

Astım, KOAH, alerjik durumlar, paraziter enfeksiyonlarda kan eozinofil yüksekliği olabilir. Tedavi edilen ve eozinofilik olmayan astımlılar normal kan eozinofillerine sahip olabilir. (81).

2.7.8. Balgam Eozinofilleri

Başka durumlarda da ortaya çıkabilir (eozinofilik fenotipli KOAH, eozinofilik bronşit). Balgam eozinofilleri inhaler veya oral kortikosteroid tedavisi ile baskılanabilir. Yalnızca uzman merkezlerde bulunan bir testtir, pahalı ve zaman alıcıdır (81).

2.7.9. Deri Prick Testi (SPT)

Deri prick testi (SPT) alerjik rinit ve/veya astım düşündüren hastalarda semptomların potansiyel tetikleyicilerini tanımlamak için kullanılan bir tanı aracıdır. SPT alerjik astım tanısı, alerjiden kaçınma, alerjen spesifik immünoterapi ön değerlendirmesi ve ağır astımlı olgularda anti-IgE tedavi kararı açısından önemli bir testtir (85).

2.7.10. Akciğer Grafisi

Postero-anterior (PA) akciğer grafisi diğer hastalıkları ekarte etmek amacıyla çekilebilir. Astımda akciğer grafisi genellikle normaldir, ataklarda hiperinflasyon bulguları olabilir. Hastanın düzenli kontrollerinde rutin grafi çekimi gerekli değildir (2,9).

2.8. Astımın Ayırıcı Tanısı

Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH) tam reverzibl olmayan, genellikle ilerleyici ve akciğerin iritan partikül ve gazlara karşı anormal inflamatuvar cevabı ile seyreden hava yolu hastalığıdır. Yakınmaların tekrarlayıcı değil ilerleyici karakterde olması, belirgin sigara öyküsünün olması, atopi öyküsünün yokluğu, geç başlangıçlı olması ve hava yolu darlığının tam olarak geri dönüşümlü olmaması ile astımdan ayrılır. Bazı hastalarda astım ve KOAH'ın birlikte bulunabileceği de [astım-KOAH overlap sendromu (AKO)] unutulmamalıdır (1).

Viral veya bakteriyel etkenlerin neden olduğu akut bronşitler alt hava yollarını tutarak öksürük ve hışıltılı solunuma yol açabilir. Semptomlar akut evreden sonra hafiflemekle beraber üç aya kadar devam edebilir. Yakınmaların tekrarlayıcı karakter göstermemesi ve uzun sürmemesi ile astımdan ayrılır. Üst solunum yolu enfeksiyonlarından sonra görülen hava yolu aşırı duyarlılığı öksürüğe neden olabilir. Öncesinde enfeksiyon öyküsünün olması ve genellikle üç aydan uzun sürmemesi ile astımdan ayrılır. Kronik sinüzit, postnazal akıntı, gastroözofageal reflü, anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörü kullanımı gibi astımla beraber veya ayrı olarak bulunabilen durumlar tekrarlayıcı öksürük semptomu nedeniyle, öksürükle seyreden astım türü ile karışabilirler. Vokal kord disfonksiyonu, vokal kord paralizi, larenks, trakea ve ana karinada bronş tümörleri, lenfoma, yabancı cisimler, larenks disfonksiyonu, bronkopulmoner displazi, bronş tüberkülozu astıma benzer semptomlara yol açar. Yakınmaların kalıcı ve ilerleyici oluşu ve tedaviyle reverzibilite göstermemesi nedeniyle astımdan ayrılır. Sol kalp yetmezliği sırasında gelişen hışıltı, nefes darlığı ve öksürük kardiyak astım olarak adlandırılmaktadır. Eforla dispne ve gece semptomlarının her iki hastalıkta da görülüyor olması teşhisi güçleştirmektedir (1).

2.9. Astımın Değerlendirilmesi ve Kontrol

Önceki yıllarda astım ağırlığı hastanın semptomlarının yoğunluğuna, solunum fonksiyonlarının düzeyine, atak olup olmadığına göre sınıflandırılır ve astım tedavisi de hastanın ağırlığına göre düzenlenirdi. Günümüzde ise astım ağırlığı semptomları

ve atakları kontrol altında tutabilen minimum ilaç gereksinimine göre sınıflandırılmaktadır (2).

En uygun basamakta en az 3 aydır kontrol altında olan hastada eğer astım kontrolü basamak 1-2 tedavisi ile [örneğin; düşük doz inhaler kortikosteroid (İKS), Lökotrien reseptör antagonisti (LTRA)] sağlanabiliyorsa “hafif astım”, basamak 3 tedavisi ile [örneğin; düşük doz İKS+uzun etkili beta-2 agonist(LABA)] sağlanabiliyorsa “orta astım”, basamak 4-5 tedavisi ile [örneğin; orta-yüksek doz İKS+LABA ve ek diğer ilaçlar] sağlanabiliyor, ya da bu tedavilere rağmen astım kontrol altına alınamıyorsa “ağır astım” denilmektedir. Astımlı hastaların uzun süreli takibinde; tedaviye cevabın gözden geçirilmesi, sonuçlara göre astımın değerlendirilmesi ve tedavinin astımın durumuna göre yeniden düzenlenmesi gereklidir (2).

2.9.1. Astımın Değerlendirilmesi

2.9.1.1. Astım Kontrolünün Değerlendirilmesi

- Son 4 haftadaki semptom kontrolünün değerlendirilmesi.
- Ataklar, persistan hava akımı kısıtlaması ve ilaç yan etkileri açısından hastanın risklerinin belirlenmesi.
- Tedaviye başlamadan önce ve tedaviyi izlerken solunum fonksiyonlarının ölçülmesi.

2.9.1.2. Tedavinin Değerlendirilmesi

- Hastanın halen almakta olduğu tedavinin kaydedilmesi.
- İnhalasyon tekniğinin değerlendirilmesi.
- Hastanın yazılı eylem planının kontrol edilmesi.
- Hastanın tedaviye bakışının ve tedaviden beklentilerinin öğrenilmesi.

2.9.1.3. Komorbiditelerin Değerlendirilmesi

Rinit, sinüzit, rinosinüzit, gastroözefageal reflü, obezite, obstrüktif uyku apnesi, depresyon, anksiyete gibi komorbiditeler ve bunlara yanıtın değerlendirilmesi (1).

2.9.2. Astımda Kontrol

Astım kontrolü astım semptomlarının ve gelecek risklerin ne derece azaldığı, tedavi hedeflerinin karşılanıp karşılanmadığını ifade eden bir terimdir. Her bir hasta için astım kontrolünden bahsedilirken her iki parametre göz önüne alınmalıdır (2):

- a) Semptomların kontrolü
- b) Gelecek riskler açısından değerlendirme

2.9.2.1 Semptom Kontrolünün Değerlendirilmesi

Astımda semptom kontrolünün değerlendirilmesinde aşağıdaki yöntemlerden birisi kullanılarak astımlı hastada semptomların kontrol altında olup olmadığına karar verilir. Bu grup içerisinde en çok GINA tarafından önerilen değerlendirme kullanılmaktadır. Tablo 2.3’de GINA semptom kontrol kriterleri özetlenmiştir (2). Çalışmalarla geçerliliği kanıtlanmış astım kontrolünün rakamsal olarak ifade edilmesinin sağlandığı testlerdir. [astım kontrol testi (AKT) ve astım kontrol ölçeği (ACQ)] (86-88).

Tablo 2.3. GINA semptom kontrol değerlendirme algoritması (GINA’dan, 2)

Son 4 haftada aşağıdaki semptomlara sahip mi?	Semptom kontrol düzeyi	
Haftada ikiden fazla gündüz semptomu	Bunlardan hiçbirisine sahip olmama	İyi kontrollü astım
Astım nedeniyle herhangi bir gece uyanma	Bunlardan 1 ya da 2’sine sahip olma	Yetersiz kontrollü astım
Kurtarıcı ilaca haftadan ikiden fazla gereksinim duyma	Bunlardan 3 ya da 4’üne sahip olma	Kötü kontrollü astım

2.9.2.2. Gelecek Riskler Açısından Değerlendirme

Astım hastalarının hem semptom kontrolü hem de gelecek risk değerlendirmesinin yapılması gereklidir. Astıma bağlı kötü sonuçlar (gelecek riskler) üç başlık altında toplanabilir (2): atak, persistan hava akımı kısıtlaması ve tedavi yan etkisi.

2.10. Astım Tedavisinde Kullanılan İlaçlar

Astım tedavisinde kullanılan ilaçlar kontrol edici ve rahatlatıcı (semptom giderici) ilaçlar olarak ikiye ayrılır. Kontrol edici ilaçlar antiinflamatuvar etkileri yoluyla astımın kontrol altında tutulmasını sağlamak üzere her gün ve uzun süre kullanılan ilaçlardır. İn hale ve sistemik steroidler, inhale steroidler ile birlikte kullanılan uzun etkili inhale beta2-agonistler, lökotrien antagonistleri, yavaş salınan teofilin, uzun etkili antikolinergikler, anti-IgE ve sistemik steroid dozunun azaltılmasını sağlayan diğer tedaviler. İn hale steroidler günümüzde kullanılan en etkili kontrol edici ilaçlardır. Rahatlatıcı ilaçlar hızla etki ederek bronkokonstrüksiyonu düzelten ve semptomları gideren, gerektiğinde kullanılan ilaçlardır. Hızlı etkili inhale beta2-agonistler, inhale kısa etkili antikolinergik ilaçlar, kısa etkili teofilin, kısa etkili oral beta2-agonistler, acil durum tedavisi kapsamında bunlara ilave olarak kullanılabilen magnezyum ve sistemik steroidlerdir (9).

2.10.1. Astım Tedavisi Uygulama Yolu

Astım tedavisi inhalasyon, oral veya parenteral olarak uygulanabilmektedir. İn haler tedavinin avantajı, düşük sistemik yan etki riskiyle ilaçların doğrudan hava yollarına verilmesi ve bu bölgelerde daha yüksek lokal konsantrasyonlara ulaşabilmesidir. Astım için kullanılan inhaler ilaçlar basınçlı ölçülü doz inhaler (ÖDİ), nefesle harekete geçen ÖDİ, kuru toz inhaleri (KTİ) ve nebülizasyon şeklinde bulunmaktadır (9).

2.10.2. Kontrol Edici İlaçlar

2.10.2.1. İnhaler Kortikosteroidler

İnhaler steroidler (İKS), günümüzde persistan astımın tedavisinde kullanılan en etkili antiinflamatuvar ilaçlardır. Etkilerini, nükleer reseptörler üzerinden sentezlenen inflamatuvar sitokinlerin ve diğer proteinlerin transkripsiyonlarını baskılayarak gösterir (9). Hastalık kontrolünü iyileştirir ve astım alevlenmelerini azaltır (89). Bu ilaçlar astım semptomlarını, hava yolu aşırı duyarlılığını, hava yolu inflamasyonunu, atak sıklığını ve şiddetini azaltır. Astıma bağlı mortalitenin azaltılmasında, yaşam kalitesinin ve akciğer fonksiyonlarının artırılmasında, sonuç olarak astımın kontrol altına alınmasında etkinliği gösterilmiştir (9). İnhaler kortikosteroidler yüksek dozda uzun süre kullanıldığında sistemik yan etkilere neden olabilir. Ciltte kolay morarma, böbreküstü bezlerinde baskılanma ve kemik mineral yoğunluğunda azalma olabilir. Astımlı hastalarda İKS kullanımına bağlı artmış pnömoni riski de pekçok çalışmada gösterilmiştir. İKS lokal yan etkileri ise orofaringeal kandidiyazis, ses kısıklığı (disfoni) ve üst solunum yolu irritasyonuna bağlı oluşan öksürüktür (90-92).

2.10.2.2. İnhaler kortikosteroid (İKS) ve Uzun Etkili β -agonist (LABA) Kombinasyonları (İKS-LABA)

Günümüzde astım tedavisinde onaylanmış inhaler steroid ve uzun etkili beta-2 kombinasyonları (9):

- Beklometazon/formoterol
- Budesonid/formoterol
- Flutikazon furoat/vilanterol trifenoat
- Flutikazon propionat/formoterol
- Flutikazon propionat/salmeterol

2.10.2.3. Lökotrien Antagonistleri

Etkisini, araşidonik asit metabolizmasında yer alan, akciğer dokusu ve kan hücrelerinde bulunan sisteinil lökotrien tip 1 (Cys LT1) reseptörünü bloke ederek

gerçekleştirir. Klinik çalışmalar lökotrien antagonistlerinin küçük ve değişken bir bronkodilatör etkisinin olduğunu, öksürük dahil olmak üzere semptomları azalttığını, akciğer fonksiyonunda düzelme sağladığını ve hava yolu inflamasyonu ile astım alevlenmelerini azalttığını göstermiştir. Aspirine duyarlı astımlıların tedavisinde etkilidirler (9).

2.10.2.4. Uzun Etkili Antikolinerjik (Antimuskarinik) İlaçlar

Parasempatik sinir sistemi muskarinik reseptörlerinin blokajı ile etkilerini gerçekleştirirler. Uzun etkili antikolinerjik tiotropiumun, kontrol altında olmayan astımlılar için ilave tedavi seçeneği olarak planlandığı çalışmalarda akciğer fonksiyonlarında düzelme sağladığı, atak sayısını azalttığı gösterilmiştir (9).

2.10.2.5. Sistemik Steroidler

Ağır ve kontrol altına alınamayan persistan astım hastalarında uzun süreli oral steroid tedavisi astım kontrolünü arttırabilir ancak yan etkileri kullanımını sınırlamaktadır. Astımda uzun süreli sistemik steroid tedavisinin terapötik indeksi uzun süreli inhaler steroide göre daha düşüktür (1).

2.10.2.6. Teofilinler

Teofilinler, bronkodilatör, antiinflamatuvar, immünmodülatör ve bronkoprotektif etkileri nedeniyle kullanılmaktadır. Teofilin, özellikle yüksek dozlarda önemli yan etkilere neden olabilir ve bu durum kullanımını kısıtlamaktadır. Teofilinin başlıca yan etkileri, bulantı-kusma, sinirlilik, uykusuzluk, baş dönmesi, aritmi, konvulsiyon, hipotansiyon, hiperglisemi ve hipokalemi (93).

2.11. Astım Tedavisinde Biyolojik Ajanlar

2.11.1. Anti-IgE

İnsanlaştırılmış bir anti-IgE monoklonal antikoru olan omalizumab, Amerika Birleşik Devletleri (ABD) ve Avrupa Birliği'nde (AB) astım tedavisi için onaylanmış

ilk biyolojik ajandır. Omalizumab, IgE'nin mast hücreleri ve bazofillerde bulunan yüksek afiniteli reseptörüne (FcγRI) bağlanmasını önler, bu da proinflamatuvar mediyatörlerin salınımını azaltır. Omalizumab ayrıca IgE reseptörünün mast hücrelerinde ekspresyonunu down regüle ederek inflamasyonu daha da azaltır. Omalizumab, 15 yıldan uzun süredir alerjik astım tedavisi için klinik olarak kullanılmaktadır. Plaseboya kıyasla astım alevlenmelerini yaklaşık %25 azaltmıştır. İnhaler kortikosteroid ile kontrol altına alınamayan orta ve şiddetli astımda, pozitif alerji testi varlığında, IgE düzeyi 30-1300 IU/ml olduğunda kullanılabilir. Klinik çalışmalarda anafilaksi riski %0.1-0.2 olarak bildirilmiştir (94).

2.11.2. Anti-IL-5

Orta-şiddetli astımı olan hastaların bir kısmı, kortikosteroidlerle tedaviye rağmen balgam ve/veya kan eozinofillerinde artış ile karakterize eozinofilik fenotipe sahiptir. Bu hastalar sık alevlenmelere daha yatkındır. IL-5, eozinofillerin toplanması, aktivasyonu ve hayatta kalmasında rol oynayan birincil sitokindir. Bu yolu inhibe eden anti IL-5 eozinofilik hava yolu inflamasyonunu azaltır. Mepolizumab, benralizumab ve reslizumab, IL-5'in eozinofiller üzerindeki reseptörüne bağlanmasını önleyen ve bu yolla eozinofilik inflamasyonu azaltan monoklonal antikorlardır (mAb). Mepolizumabın birçok hastada astım alevlenmelerini azalttığı, akciğer fonksiyonunu iyileştirdiği ve steroid kullanımını azalttığı gösterilmiştir (94).

2.11.3. Anti-IL-4/IL-13

Dupilumab IL-4 ve IL-13 sinyalini bloke eden bir mAb'dur (95). Dupilumab'ın astımda alevlenmeleri azalttığı, akciğer fonksiyonlarını iyileştirdiği ve oral steroid kullanımını azalttığı gösterilmiştir. (94).

2.12. Astımda Tedavi

Astım tedavisinin temelini hastalığı kontrol altında tutmak için “kontrol edici” ilaçların, semptom olduğunda da “semptom giderici” ilaçların kullanılması oluşturur (1,2).

2.12.1. Astım Başlangıç Tedavisi

Astım tedavisine mümkün olduğunca erken başlanması gerekmektedir. Özellikle kontrol edici ilaçların tedavide geç kullanılması daha yüksek dozlara gereksinim duyulmasına yol açmaktadır (1,2). Astımda inhale beta2 agonist kullanımının mutlaka İKS ile birlikte olması gerekmektedir. Bu kapsamda İKS+formoterol içeren fiks kombinasyonlar öncelikli bronkodilatör olarak önerilmektedir (1). Hastalarda “semptomların sıklığı” ve “atak öyküsüne göre” tedavinin başlanılacağı basamağa ve ilaca karar verilir (2).

2.12.2. Tedaviye Yanıtın İzlenmesi ve Değerlendirilmesi

Astımlı hastalar belirli aralıklarla takip edilmeli, tedaviye yanıt değerlendirilmelidir. İzlemlerde temel nokta hastalığın kontrol altında tutulması ve gelecek risklerin önlenmesidir. Hastanın klinik özelliklerine göre 3-12 ayda bir düzenli kontrol önerilir (1). Astımda geleneksel tedavi yaklaşımı basamak tedavisidir. Basamak tedavisi astım kontrol düzeyine göre tedavinin düzenlendiği ve kontrolü sağlamayı hedefleyen bir yöntemdir. Kontrol altında olmayan hastalarda ilaç doz ve çeşidinin artırılması (basamak çıkmak), iyi kontrol sağlanan hastalarda ise ilaç doz ve çeşidinin azaltılması (basamak inmek) şeklinde uygulanır. Takipteki değerlendirmeye göre basamakta aşağı ya da yukarı hareket edilerek tedaviler güncellenir (1).

2.13. Astımda İmmünoterapi

Alerjen spesifik immünoterapi, uzun yıllardır kullanılan bir tedavi yöntemidir. Hastanın duyarlı olduğu bilinen alerjen ekstresinin giderek artan dozlarda verilmesi ile hastada klinik ve immünolojik tolerans oluşturulmaya çalışılır. Bu sayede hastanın immün cevabı değişerek semptomlar ve ilaç kullanımı ortadan kaldırılmış olur (96).

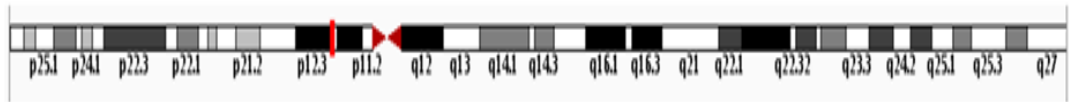
2.14. İnterlökin 17 (IL-17)

2.14.1. IL-17 Geni ve IL-17

IL-17A ve IL-17F'yi kodlayan genler 6. kromozomun p12 bölgesinde bulunurlar ve birbirine çok yakın olarak yerleşmiştir (Şekil 2.4). Her iki gen de üçer ekzondan meydana gelmiştir. *IL-17A* ve *IL-17F* geni boyut ve konumları Tablo 2.4 ve 2.5'de verilmiştir (97-102).

IL-17A ve IL-17F'nin ekspresyonu, T hücrelerinde özellikle inflamasyonda artmaktadır. IL-17B, birkaç periferik doku ve bağışıklık dokusunda eksprese edilir. IL-17C inflamatuvar koşullarda artar. IL-17D sinir sisteminde ve iskelet kasında yüksek oranda eksprese edilir ve IL-17E, çeşitli periferik dokularda düşük seviyelerde bulunur (101,102).

IL-17 araştırmalarında çok ilerleme kaydedilmiştir. IL-17 üretiminin IL-23'e bağlı olduğu gösterilmiştir (103). Daha sonra Koreli bir grup IL-23 aracılı IL-17 üretimi için STAT3 ve NF- κ B sinyal yollarının gerekli olduğunu keşfetmiştir (104). Chen ve arkadaşları başka bir molekül olan sitokin sinyal supressör 3'ün (SOCS3) IL-17 üretiminde önemli bir rol oynadığını göstermiştir (105). SOCS3'ün yokluğunda, IL-23 ile indüklenen STAT3 fosforilasyonu artar ve fosforile STAT3, hem *IL-17A* hem de *IL-17F* geni promotör bölgelerine bağlanarak gen aktivitelerini artırır. Birkaç araştırmacı, IL-23'e ihtiyaç duymadan Transform edici büyüme faktör beta (TGF- β) ve IL-6 tarafınca in vitro ve in vivo IL-17 üretimini arttırmanın yollarını tanımlamıştır (106,107).



Şekil 2.4. 6. Kromozom (NCBI'dan, 108)

Tablo 2.4. *IL-17A* boyut ve konumu

GEN	boyut (bp)	protein (aa)	ekson	transkript (bp)	kromozom	lokasyon
<u><i>IL17A</i></u>	4264	155	3	1871	6	52,186,375- 52,190,638

Tablo 2.5. *IL-17F* boyut ve konumu

GEN	boyut (bp)	protein (aa)	ekson	transkript (bp)	kromozom	lokasyon
<u><i>IL17F</i></u>	7857	163	3	850	6	<u>52,236,681-</u> <u>52,244,537</u>

2.14.2. IL-17 Sitokin Ailesi

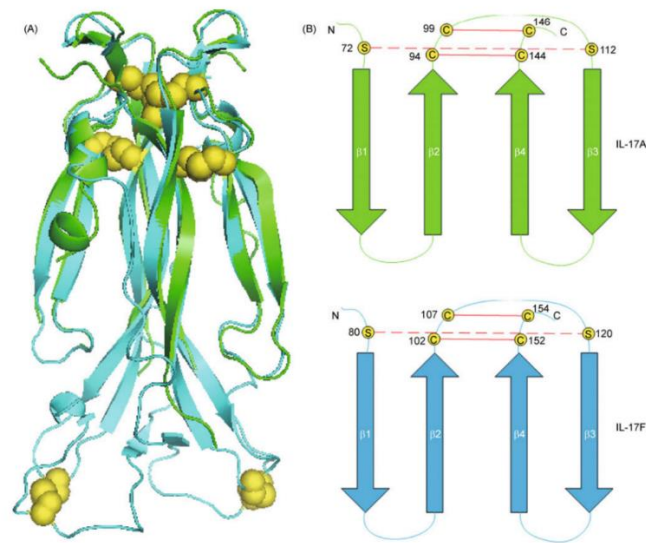
1993 yılında kemirgen T hücre hibridomundan IL-17A transkriptini izole eden Rouvier ve arkadaşları tarafınca tanımlanmıştır (109). Bu ailenin diğer beş üyesi de IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E (IL-25 olarak da adlandırılır) ve IL -17F, amino asit sekans homolojisi temelinde tanımlanmıştır (110). IL-17 ailesinin tüm üyeleri benzer bir protein yapısına sahiptir. Protein dizileri yüksek oranda korunmuş dört sistein kalıntısı içerir. Bu korunmuş sistein kalıntıları, tüm protein molekülünün üç boyutlu şekli için önemlidir (98). Tablo 2.6’da IL-17 sitokin ailesi üyeleri boyut, uzunluk ve kromozom konumları sunulmuştur.

Tablo 2.6. IL-17 Sitokin ailesi (Kolls'dan, 98)

IL-17 Alt Tip	Boyut (kDa)	Uzunluk (aa)	Kromozomal Konum
A	35	155	6p12
B	41	180	5q32-34
C	40	197	16q24
D	52	202	13q12.11
E	34	161	14q11.2
F	44	153	6p12

2.14.3. IL-17 Yapısı

IL-17 bilinen diğer interlökinler ve proteinlere benzerlik göstermez. IL-17A moleküler kütlesi 35 kilodalton (kDa) olan, disülfide bağlı, homodimerik, 155 aminoasitli salgılanan bir glikoproteindir. Homodimerin her bir alt birimi yaklaşık 15-20 kDa'dır (101,102). IL-17A'ya %50 homolog olan IL-17F'nin kristal yapısı sistin disüfitleri içeren nörotrofin ailesine benzemektedir. IL-17F üçüncü disülfür bağından yoksundur. Bunun yerine, bir serin bu pozisyonda sisteinin yerini alır. IL-17F nerve büyüme faktörü (NGF) ve diğer nörotrofinlere benzer şekilde dimerize olur (Şekil 2.5) (111,112).



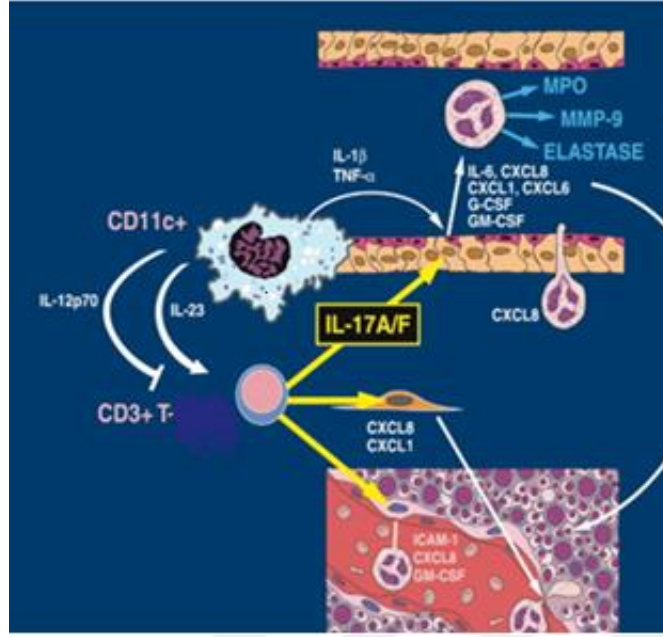
Şekil 2.5. IL-17A ve F'nin yapısı (Zhang'dan,112)

2.14.4. IL-17 Reseptör Ailesi

IL-17 reseptör ailesi beş üyeden (IL-17RA, RB, RC, RD ve RE) oluşmaktadır. Bu reseptör ailesi içinde IL-17RA en iyi tanımlanandır. IL-17 ile uyarım üzerine IL-17RA, proinflamatuvar moleküllerin üretimini uyarmak üzere sinyal yollarının aktivasyonunu başlatır. Bununla birlikte, IL-17RA tek başına IL-17 sinyaline aracılık etmek için yetersizdir. IL-17'nin, IL-17RA ve IL-17RC'den oluşan bir heterodimerik reseptör kompleksi aracılığıyla sinyal verdiği ortaya çıkarılmıştır. IL-17A ile en büyük sekans homolojisini paylaşan IL-17F, aynı reseptör kompleksi aracılığıyla sinyal verir ancak IL-17F, IL-17A'ya göre yaklaşık olarak 100 ile 1000 kat daha düşük affinite ile IL-17RA'ya bağlanır. IL-17RA endotelial hücreler, periferik T ve B hücreleri, miyelomonositik hücreler, fibroblast, akciğer ve kemik iliği stromal hücreleri olmak üzere birden fazla dokuda eksprese edilmektedir (98, 110, 113, 114, 115).

2.14.5. Hava Yolu İnflamasyonunda IL-17 Sinyali

IL-17 İnflamatuvar ve otoimmün hastalıkların gelişmesinde ve ilerlemesinde önemli bir rol oynamaktadır (116). Mukozal T lenfositler, makrofaj veya dendritik hücrelerden IL-23 gibi tetikleyicilere yanıt olarak IL-17A veya F üretir. IL-17A ve F, fibroblastlar, epitel ve endotel hücreleri üzerinde bulunan reseptörler aracılığıyla sinyal verir. IL-17A/F kemokin (C-X-C) ligandları (CXCL8, CXCL6, CXCL1), büyüme faktörleri (G-CSF, GM-CSF, IL-6) ve hücre içi adhezyon molekülü 1(ICAM-1) gibi molekülleri uyarak granülopoez olarak adlandırılan artmış nötrofil birikimine yol açar (98).



Şekil 2.6. Hava yolu inflamasyonunda IL-17 sinyali (Kolls'dan, 98)

2.14.6. IL-17 Astım İlişkisi

IL-17A ve IL-17F astımlı hastaların hava yollarında bulunur ve ekspresyon seviyesi hastalığın ciddiyeti ile ilişkilidir. Bronşiyal epitel hücrelerinde, endotelial hücrelerde, fibroblastlarda ve eozinofillerde çeşitli sitokinleri, kemokinleri ve adezyon moleküllerini indükler. IL-17A ve IL-17F hava yolu nötrofilisi, birçok sitokinin aktivasyonu, solunum yolu hiperreaktivitesi ve aşırı mukus salgılanmasına neden olmaktadır. Bu nedenle IL-17F, alerjik hava yolu inflamasyonunda önemli bir role sahiptir (117). Kontrolsüz astımı olan hastalarda, iyi kontrollü astım hastaları ve sağlıklı kontrol grubuna göre serum IL-17 seviyeleri anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur (118). IL-17A, hücre dışı bakteriler, mantarlar ve mukozal hücreleri enfekte eden virüslerden korunmada önemlidir. Bununla birlikte, IL-17 sitokinlerinin anormal veya aşırı ekspresyonu, astım, pnömonitis, pulmoner fibrozis oluşumu ve alevlenmesi dahil olmak üzere bir dizi patolojik sonuca katkıda bulunmaktadır (119).

IL-17A ve *IL-17F* geni tek nükleotid polimorfizmlerinin (SNP) astım duyarlılığı için potansiyel risk faktörleri olabileceği belirtilmiştir (120). Asya

popülasyonunda, *IL-17* rs763780, rs2275913 ve rs8193036 SNP'lerinin astım ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (121). *IL-17* polimorfizmlerinin romatoid artrit ve inflamatuvar bağırsak hastalığı dahil çeşitli otoimmün hastalıklarla ilişkili olduğu, kanser gelişme riskini arttırdığı gösterilmiştir (122,123, 124). *IL-17* polimorfizmleri pekçok durumda araştırılmıştır. *IL-17* ve ilişkili olduğu durumlar Tablo 2.7.'de sunulmuştur (125).

Tablo 2.7. *IL-17* ve ilişkili olduğu durumlar (McGeachy'den,125)

Sağlıkta	Hastalıkta
Yara İyileşmesi Epitel proliferasyonu Bariyer fonksiyonu Ekstrasellüler matriks yeniden düzenlenmesi Metabolizma Termogenezis Adipoz doku regülasyonu Mikrobiyota hemostaz Enfeksiyonla mücadele	Nörodejenerasyon Otizm Depresyon Kronik inflamasyon Patojenik doku yeniden düzenlenmesi Tümörögenез Kemik erezyonu Obezite ilişkili inflamasyon Otoimmün hastalıklar

2.14.7. *IL-17* Terapötik Hedefler

IL-17 inhibitörleri immün düzenleyici rolü nedeniyle, romatoid artrit, sedef hastalığı ve inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi otoimmün hastalıklar için olası tedavi hedefi olarak araştırılmaktadır. Anti-*IL-23* antikoru Ustekinumab'ın *IL-17*'yi dolaylı olarak azalttığı ve sedef hastalığını tedavi etmek için kullanılabileceği belirtilmiştir (126). *IL-17* reseptörünü nötralize ederek *IL-17A*, *IL-17F* ve *IL-25*'in aktivitesini bloke eden bir antikor (Brodalumab) için yapılan klinik çalışma, hafif ile orta dereceli astımda minimal etkiler göstermiştir (127).

2.14.8. Polimorfizm

Rastgele seçilen iki insan genomunda, DNA dizisinin %99.9'u aynıdır. DNA'nın kalan %0.1'i dizi varyasyonları içerir. Bu tür varyasyonların en yaygın türü, tek nükleotid polimorfizmi (SNP) olarak adlandırılır. Polimorfizm popülasyonda %1'den daha sık görülen ve tür içinde değişiklikler oluşmasını sağlayan genetik farklılıklardır. Spesifik genom lokuslarındaki tek baz değişiklikleri olan tek nükleotid

polimorfizmleri, insan genomunda genellikle bialelik, sık ve genom boyunca dağılmış olan genetik varyasyonlardır. SNP'ler insanların DNA'sında ortalama olarak her 1000 nükleotidde bir olacak şekilde gerçekleşir. Bir SNP genom içindeki konumuna bağlı olarak, gen ekspresyonu düzeyinde çeşitli durumlarla ilişkilendirilebilir. SNP'lerin pek çoğunun hücre fonksiyonları üzerine direkt etkisi yoktur fakat popülasyondaki çeşitlilik, bireysellik, hastalıklara yatkınlık ve ilaçlara bireysel yanıt ile ilişkili olabilirler (128,129).

Tek nükleotid polimorfizmi, bireyler arasındaki en basit ve en yaygın genetik çeşitlilik sebebidir. Bu basit değişiklikler, delesyon veya insersiyon şeklinde de olabilir. Her SNP, DNA'nın yapı taşı olan nükleotidlerdeki bir değişimi gösterir. Örneğin, bir SNP, DNA'nın belirli diziliminde sitozin (C) nükleotidinin yerini timin (T) ile değiştirebilir. İnsan genomunda kabaca 4-5 milyona yakın SNP bulunduğu düşünülmektedir. Bireyler arasındaki çeşitlilikten, genom evriminden, yaygın ailesel özelliklerden, ilaç yanıtındaki bireyler arası farklılıklardan, diyabet, obezite, hipertansiyon ve psikiyatrik bozukluklar gibi karmaşık ve yaygın hastalıklardan sorumlu olabilirler. SNP'ler, sessiz olabilir, kodlamayan bölgelerde oluşabilirler. Kodlayan bölgelerde olanlar ise amino asit dizilerini değiştirebilirler. Promoter aktivitesini ve haberci RNA (mRNA) yapısını etkileyebilirler bu nedenle hastalık oluşturabilirler. Genlerdeki çeşitli varyasyonların tanımlanması ve etkilerinin analizi, insan sağlığı üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılmasını sağlayabilir. Bu gelişmiş bilgi, tıbbi testler için yeni, yararlı SNP belirteçlerinin geliştirilmesi, yaygın ve yıkıcı rahatsızlıkları tedavi etmek için daha güvenli bir kişiselleştirilmiş tedavi sağlayabilir (130,131). İnsan genom projesi sonrası yaklaşık on milyon SNP tanımlanmıştır (132).

3. MATERİYAL ve YÖNTEM

3.1. Klinik Araştırmalar Etik Kurul Onayı

Çalışmamız 25.06.2019 tarih ve 2019/63 karar numarası ile Yıldırım Beyazıt Üniversitesi (YBÜ) Yenimahalle Eğitim Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafınca onaylanmıştır.

3.2. Araştırmanın Türü

Bu araştırma, astım tanısı ile izlenmekte olan yetişkin hastalarda yapılmış olan prospektif ve kontrollü bir çalışmadır.

3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi

Çalışmanın güç analizine göre; alfa hatası 0.05, beta hatası 0.05 ve etkinlik boyutu %50 ayarlandığında %80 güç elde etmek için toplam 127 hastaya ihtiyaç olduğu gösterilmiştir. Çalışma grubu Magnet Tıp Merkezi Göğüs Hastalıkları polikliniğinde “Astım İçin Küresel Girişim” [Global Initiative For Asthma (GINA)] rehberinde (2) belirtilen kriterler esas alınarak astım tanısı alan ve son üç ay içinde sistemik kortikosteroid tedavisi verilmemiş olan 65 hastadan oluşturulmuştur. Göğüs hastalıkları polikliniğine muayene için başvuran, tetkik için kan örneği alınan, akut ya da kronik sistemik hastalığı olmayan 62 gönüllü ise kontrol grubu olarak alınmıştır. Astımlı hasta grubu kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır.

3.3.1. Hasta Grubu

3.3.1.1. Araştırmaya Dahil Edilme Kriterleri:

Astım tanısı almış 18-65 yaş arası, erkek ve kadın hastalar

3.3.1.2. Araştırmadan Dışlanma Kriterleri:

- Kanser
- İnflamatuvar barsak hastalıkları
- Kollajen doku hastalıkları
- Psöriyazis
- Otoimmün troid hastalıkları
- İnterstisyel akciğer hastalıkları olanlar

3.3.2. Kontrol Grubu

3.3.2.1. Araştırmaya Dahil Edilme Kriterleri:

Göğüs hastalıkları polikliniğine başvurmuş, Astım ve KOAH tanısı almamış hastalar.

3.3.2.2. Araştırmadan Dışlanma Kriterleri:

- Kanser
- İnflamatuvar barsak hastalıkları
- Kollajen doku hastalıkları
- Psöriyazis
- Otoimmün troid hastalıkları
- İnterstisyel akciğer hastalıkları olanlar

3.4. Araştırılan *İnterlökin-17 (IL-17)* Geni Tek Nükleotid Polimorfizmleri

Çalışmamızda 6. kromozomun p12 bölgesinde bulunan *IL-17A* genindeki -197G>A (NM_002190.3:c.) -737C>T (NM_002190.3:c.) ve *IL-17F* genindeki 7488T>C (NM_052872.4:c.482A>G) tek nükleotid polimorfizmlerinin astım hastalığı ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Temmuz 2019-Aralık 2020 tarihleri arasında Magnet Hastanesi Göğüs Hastalıkları Polikliniğinde hasta ve kontrol gruplarına bilgilendirilmiş onam formları imzalatıldıktan sonra EDTA'lı tüplere 5 ml periferik kan örnekleri alınmıştır. Numuneler çalışılncaya kadar -20°C'de dondurularak saklanmıştır. Laboratuvar çalışmaları İntergen Genetik ve Nadir Hastalıklar Tanı Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde yapılmıştır.

3.5. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu, HibriGen Kandan DNA İzolasyon Kiti (İstanbul, Türkiye) kullanılarak yapılmıştır. DNA izolasyonu için aşağıdaki basamaklar uygulanmıştır:

1. 200 µl kan örneği 1.5 ml eppendorf tüpe konuldu.
2. Üzerine 20 µl Proteinaz K ve 220 µl bağlama tamponundan (DB tampon) eklenerek 15 saniye vortekslendi (Biosan combi-spin FVL-2400N).
3. 65°C'de 20 dakika inkübe edildi (Biosan TDB-120).
4. Tüp duvarındaki damlaların aşağı inmesi için 5 saniye çevrildi (Biosan combi-spin FVL-2400N).
5. 220 µl %96'lık etanol eklendi ve 15 saniye vortekslendi. Vorteksdan sonra tüp duvarındaki damlaların aşağı inmesi için 5 saniye çevrildi (Biosan combi-spin FVL-2400N).
6. Elde edilen karışım, 2 ml'lik toplama tüpünün içinde bulunan Hibrigen spin kolona aktarıldı ve tüpün kapağı kapatılarak 12.000 revolutions per minute (rpm) devirde 2 dakika santrifüj edildi (Eppendorf 5415R).
7. Alttaki 2 ml'lik toplama tüpü atıldı. Hibrigen spin kolon, 2 ml' lik yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.
8. 500 µl yıkama tamponu (DY tampon) eklenerek 12.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi (Eppendorf 5415R).
9. Alttaki 2 ml'lik toplama tüpü atılarak, Hibrigen spin kolon, 2 ml'lik yeni bir toplama tüpüne yerleştirildi.
10. 500 µl DY tamponu eklenerek 12.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi (Eppendorf 5415R).

11. Kolon membranının kuruması için, Hibrigen spin kolon 2 ml'lik yeni bir toplama tüpüne yerleştirilerek 12.000 rpm'de 2 dakika santrifüj edildi (Eppendorf 5415R).
12. Hibrigen spin kolon, 1,5 ml'lik mikro santrifüj tüpüne yerleştirildi. 90 µl elüsyon tamponu (DE tampon) eklendi ve oda ısısında 3 dakika inkübe edildikten sonra, 12.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi (Eppendorf 5415R).
13. Spin kolon atıldı, izolatu içeren 1,5 ml'lik tüp saklandı.

Elde edilen izolatlar Nanodrop 1000 (Thermo Inc.) mikrohacim spektrofotometresi ile ölçüldü. Konsantrasyonu 10 ng/µl ve üstü olan örnekler kullanıldı. Konsantrasyonu 10 ng/µl'den düşük olan örneklerden tekrar izolasyon yapıldı. Elde edilen izolatlar PCR aşamasına kadar -20 °C'de saklandı.

3.6. Primer Tasarımı

Primerlerin tasarımı için referans diziler biyoinformatik veri tabanlarından biri olan Ensemble'dan alındı. Kullanılan primerler, ampikon boyları ve kullanılış amaçları Tablo 3.1'de gösterildiği gibidir. Tüm primerler için homoloji, primer-dimer oluşumu ve diğer primerlerle olan uyumları kontrol edildi. *IL-17A* geni için iki ileri iki geri olmak üzere dört primer dizayn edildi. *IL-17F* geni için üç ileri ve üç geri olmak üzere altı primer dizayn edildi. Primer tasarımında aşağıdaki kriterlere dikkat edildi. Kullanılan primerler ve ampikon boyları Tablo 3.1'de sunulmuştur.

3.6.1. Primer Tasarımı Yapılırken Dikkat Edilen Kriterler

- Primer uzunlukları 18-24 baz çifti (bç) arasında seçildi.
- Primer-dimer oluşumuna sebep olmayacak şekilde dizilerin seçilmesine dikkat edildi.
- Primerlerin içerdiği G ve C nükleotidleri toplam oranının %40-60 arasında olmasına dikkat edildi.
- Primerlerin bağlanmasını desteklemek için son 5 bazdan 3'ü C veya G bazı idi.
- Primerlerin bağlanma sıcaklıkları optimum 60 ° C olarak belirlendi.

- Primerlerin içerisinde 4 bazdan fazla tekrar olmamasına dikkat edildi.
- Saç tokası (hairpin) denilen yapıyı oluşturmaması için primerler kendi içinde eşlenik baz dizileri içermemekteydi.

Tablo 3.1. Kullanılan primerler ve amplikon boyları

Primer	Oryantasyon	Dizileme	Genotipleme	boyu (bp)	Sekans (5'-3')
IL17F-1F	İleri	Ekson 1	-	356	GGTCAACCACAACCTTAAAGACAGTAAGC
IL17F-1R	Geri				TTATTTTTTCTTTTCTCCACCAGACAG
IL17F-2F	İleri	Ekson 2	-	760	AGTTCTCAGTTGGCACCTTGATACC
IL17F-2R	Geri				CCGACTTTTCTGTTTCCCATTATCCTC
IL17F-3F	İleri	Ekson 3	SNP3	496	TAGAAAGGTAAGCCACTGCCAGAGG
IL17F-3R	Geri				TCAGACAGGACTTGTTGCAGAGCAC
IL17A-1F	İleri	Ekson 1	SNP1, SNP2	922	CATCATGTCTCCTCTCCTTTCTAGTTCTC
IL17A-1R	Geri				ATAGTCAGAACCCAGCGTTTCATGC
IL17A-2F	İleri	Ekson 2,3	-	1919	GTAGTATAGATTGTCCTGGAACATTGTGTG
IL17A-3R	Geri				GAAATGAGGCTGTCTTTGAAGGATGAG

Atttgtgggcaatgggggtggaagtaggtagaaggaaagaaaaatttggtccttttctgtcatccctttcttt
aggggtcccccttttgttccccttcgggaaatggaataaaaaaaaaccctgcattcgtcagtaactccgggtc

IL17-1F

AaccacaacttaagacagtaagcaggtcaatcgaaacaggggcaATGATTGCTATAAACTAACAGGTA CTCTC
ATTGATAGAACACAGGCATACACAGGAAGATACATTACAGAAAGAGCTTCCTGCACAAAGTAAGCCACCAGCGC
AACATGACAGTGAAGACCCTGCATGGCCAGCCATGgtgagtagcagcaatcattctggtttaaggactgtcatg
cctaggatttcagaaaaagaaatcctaaggaattaggtttgattgggtcttttgggaattacttcttaaaaaac

IL17F-1R

agagatgactttaattttgactcctgtctggtggagaaaaaagaaaaataactagaaaagtataatggcataa
aaatgcagctcctggccaggcgtggtggctcatgcctgtaatccagcactttaggaggccaaggcgggctc

ctcagacccttgcatctttctgtctcactgtttgggagccttttagactatggagggttcagttactagctagggc

IL17-2F

tactgagtttagttctcagtttggcaccttgataaccttttaggtgtgagtggtccatttccaggtgaggaactga
ggtgcaaagagaagccctgatccataaaaggacaggaatgtgagttccgccagaccatgcatctcttctgtagt
aggtgaggcaggtctctaactgattgcagcgtcttctattttccagGTCAAGTACTTGCTGCTGTCGATATTGGG
GCTTGCCCTTCTGAGTGAGGCGGCAGCTCGGAAAATCCCCAAAGTAGGACATACTTTTTCCAAAAGCCTGAGAG
TTGCCCGCTGTGCCAGGAGGTAGTATGAAGCTTGACATTGGCATCATCAATGAAAACCGCGCTTCCATGTC
ACGTAACATCGAGAGCCGCTCCACCTCCCCTGGAATTACACgtaagtgcaaatgagactgattttcacattctt
tggaaaaatagttaattcattctaatcataaagttagaaaatgtagaatacatagaaaaataaaagggaaaatc
ctcttaacaatgaaaaattcatttaacctggagctcatatcttctgttttggactaggttcacctttgtggt
tgatggtcctaataattttgcttccagcttctcatagactttgtgccttttctgcttcatgtagttctaggatag
aattcacaaattttcctgtgttgaagagagggtctttaaagcagattgcataattatctcctcatgaggataa
atgggaaacagaaaagtcggtttaagg

IL17-2R

taacagtgggtattttatatgtacttgatcactgagttattctcaacagttgcatgagaaaatggtatatgaaaa

IL17F-3F

Tccccatcttatagttgaggaaactgaggcttagaaaaggaagccactgccagaggctggtgtatgcttccaggc
tgtgtggctccagaacctgtgccacagccctgcagaactgcctccctgcaggtgaacactcagtgctgtgggct
ctcattcgtgtcttctcccccatgcctcaccattgtgctttggcttgcctctctgcagTGCTCACTTGGGACC
CCAACCGGTACCCCTCGGAAGTTGTACAGGCCAGGTAGGAACCTGGGCTGCATCAATGCTCAAGGAAAGGAAG
ACATCTCCATGAATCCGTTCCCATCCAGCAAGAGACCCTGGTCGTCCGGAGGAAGCACAAGGCTGCTCTGTTT

G (SNP3)

CTTTCCAGTTGGAGAAGGTGCTGGTGA CTGTTGGCTGCACCTGCGTCACCCCTGTCATCCACCAATGTGCAGTAAG

IL17F-3R

AGGTGCATATCCACTCAGCTGAAGAAGCTGTAGAAATGCCACTCCTTACCCAGTGCTCTGCAACAAGTCTGTCT
GACCCCCAATTCCTCCACTTCACAGGACTCTTAATAAGACCTGCACGGATGGAACAGAAAATATTACAAATGT
ATGTGTGTATGTACTACACTTTATATTTGATATCTAAAATGTTAGGAGAAAAATTAATATATTCACTGCTAATAT
AATAAAGTATTATAATTTAAAAAaacttcaggtgtttgtttgattccagcttgtactcacagactgtgtagc
cctacacat

Şekil 3.1. IL-17F geninin PCR ile çoğaltılan hedef bölgeleri, primerler ve SNP noktaları (F:forward, R: reverse)

agggtgacatagccagccacatctatctcactggcccttctgtcctagtctctgtattctgagaaggaaactattctcaaggacct
IL17A-1F
gagtcgaagttcatcttacttagagtagagagaaaagaaccgctaactctctcttcccccacatgtctctctcttctagtctctat
(SNP2)
cactctctactccccctgccccctttctccatctccatcacctttgtccagtcctatccccatttcaattctctctcaaaacccaagtt
gcttgtagcatgcagggttggacatgccttaacagaaaatctcgtgtctctgaacctagtattattctctgagcagagtagatattca
acaaaaaagattgttaattcaattaaatagatatcttattataatatttttcatttttgttacttatgatgggaactgagtagttcc
ggaaattgtctccacaacacctggccaaggaaatctgtgaggaaaagaaagatcaaatggaaaatcaaggtagacaccagaagacc
tacatgttacttcaaaccttttctctctatgaaccattaaaatagagcataactctctcgcagctgtacatattcataaatacatgatattg
accatagcatagcagctctcagcttctaacaagtaagaatgaaaagaggacatggcttttaggaacatgaattctgcccctccat
a (SNP1)
tttcttcagaaggagagattctctatgacctcattgggggcggaaatttaaccaaaatggtgtcacccctgaacccactgcgcacgc
cacgtaagtgaccacagaaggagaaaagccctataaaaagagagacgafagcgtctacattt**GTCCATCTCATAGCAG**
GCACAACTCATCCATCCCCAGTTGATTGGAAGAAACAACGATGACTCTGGAA
GACCTCATTGGTGgtgagtcctgcactaacgtgcgatgctcttgcctgatttgaccagatagattttctggaccgtgggcatg
IL17A-1R
aaacgctgggttctgactatggagatccaggaaactgtatgttaggataaggaaatgaaagctttgtaggtatttaagtcattgtgcag
cattttcaagaactgatacacagcagttgaaagataagattaaaactgaaagatagctatattgggctaaccacacaagaagtgtca
tgtgctgataggctaatacatgccatgactgacattttattaaaattattgccaaccaatggataacatgtcttcttaagtcaaaaggag
aatgttgaactagtttttttaaaaaattttaagccatggtgttaacattatgttggtcatctacctaattttctctagctgactgaaaaat
IL17A-2F
gtagtatagattgtctggaacattgtgttctctatgattagcaatgcacacacacaattattgtcaaaaagaaccacatagtaact
aatctccaacctctctctcttccattcaattctag**TCACTGCTACTGCTGCTGAGCCTGGAGGCCATAG**
TGAAGGCAGGAATCACAATCCACGAAATCCAGGATGCCCAAATTCTGAGGACA
AGAACTTCCCCCGGACTGTGATGGTCAACCTGAACATCCATAACCGGAATACCAA
TACCAATCCCAAAGGTCTTCAGATTACTACAACCGATCCACCTCACCTTGAAT
CTCCAgtagtaagcttcagataaaaatgctatattctcatccctctatgcatcagactgccagtaaatctccctgaggatgatt
tattcatttagaattaccagtcaaacctggaggaccactgtgaagagcaattctcaaaccttctacagatttcttaaccaagcacagagac
gtcttctttctatacaattcacgtgcttgaaaaaaatccaaattgtcccaaagttcttctcaactaacatctttaagaatttgaat
gccataaattgtcatctgtgaacttgctctctcatgtattctgttttatttcttccactttaaccaggaaacttctctctgattttctcc
cctctgcag**CCGCAATGAGGACCTGAGAGATATCCCTCTGTGATCTGGGAGGCAAG**
TGCCGCCACTTGGGCTGCATCAACGCTGATGGG AACGTGGACTACCACATGAACT
CTGTCCCATCCAGCAAGAGATCCTGGTCCGTGCGCAGGGAGCCTCCACACTGCCC
CAACTCCTTCCGGCTGGAGAAGATACTGGGTCCGTGGCTGCACCTGTGTCAAC
CCGATTGTCCACCATGTGGCCTAAGAGCTCTGGGGAGCCACACTCCCCAAAGCA
IL17A-3R
GTTAGACTATGGAGAGCCGACCCAGCCCCCTCAGGAACC**CTCATCTTCAAGACA**
GCCTCATTTCGGACTAACTCATTAGAGTTCTTAAGGCAGTTTGCCAAATTAAGC
TTCAGAGGTAACACTTGGCCAAGATATGAGATCTGAATTACCTTCCCTCTTCCA

Şekil 3.2. IL-17A geninin PCR ile çoğaltılan hedef bölgeleri, primerler ve SNP noktaları

3.7. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Tasarlanan ve firmadan siparişi verilen primerler liyofize halde temin edildi. Saf su ile primerler sulandırıldı, her birinden 100 μ M olan primer konsantrasyonları hazırlandı. Elde ettiğimiz stok çözeltileri -20°C de saklandı. PCR aşamasında -20 °C’de saklanmış olan çözeltiler çıkarıldı ve santrifüj edilerek eritildi. Şekil 3.3’de gösterilmiş olan BIO-RAD T100 Thermal Cycler PCR cihazına bu PCR bileşenleri ile yapılan karışım yerleştirildi. PCR reaksiyon içerikleri Tablo 3.2’de ve PCR koşulları Tablo 3.3’de gösterilmiştir.



Şekil 3.3. PCR işleminin gerçekleştiği BIO-RAD T100 Thermal Cycler PCR cihazı

Tablo 3.2. PCR reaksiyon içerikleri

İçerik	Reaksiyon Başına Miktar (μ l)
dH ₂ O	15
5x Tampon (Thermo Inc.)	5
dNTP karışımı, her biri 10mM	0,5
İleri Primer (5 μ M)	1
Geri Primer (5 μ M)	1
PhireII HS DNA Polimeraz (Thermo Inc.)	0,5
Kalıp DNA (20-50 ng/ μ l)	2
Toplam	25

Tablo 3.3. PCR için termal döngü protokolü

Sıcaklık (⁰ C)	Süre (dk:sn)	Döngü
95	10:00	1
95	00:45	35
60	00:45	
72	00:45	
72	10:00	1
4	∞	1

3.8. Amplifikasyon ile Çoğaltılan Ürünlerin Kontrolü (Jel Elektrofözezi)

3.8.1. Jel Hazırlık Aşamaları

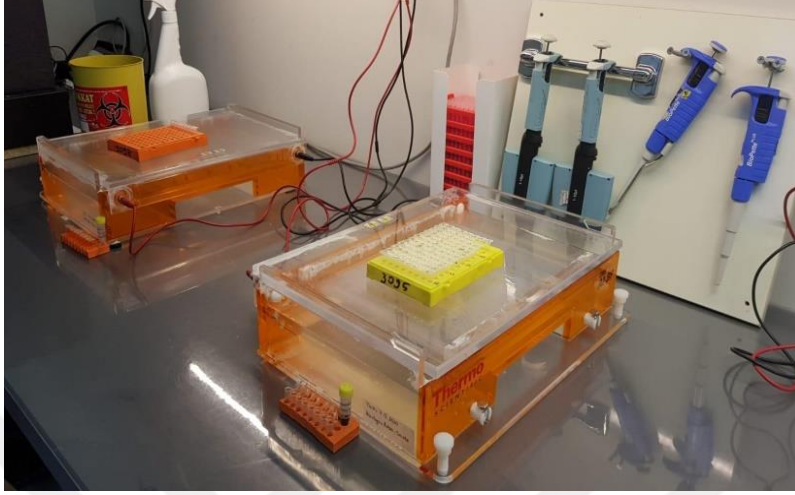
PCR sonucunda ürün elde edilip edilemediği %2'lik agaroz jel elektrofözezi kullanılarak kontrol edildi. 6,5-7 gr agaroz ve 400 ml 0,5xTBE (Tris-Borik Asit-Edta Solüsyonu) karışımı mikrodalga fırında 15 dakika kaynatılarak çözelti haline getirildi. Kaynatılmış agaroz çözeltisi 50°C'ye kadar soğutuldu. Etidyum bromür'den (EtBr) 2,9 µL karıştırılarak jel tepsisine döküldü. (Etidyum Bromür: DNA'ya bağlanır ve ultraviyole ışık altında floresan özelliği ile bantların görünür hale geçmesini sağlar.)

Kuyucukları oluşturmak için taraklar yerleştirildi. Jel soğumaya bırakıldı ve katılaşması beklendi. Katılaşan jel, Şekil 3.4'de gösterilen jel tankına (Owl A2, Thermo) alındı ve elektroförez aşamasına geçildi.

3.8.2. Jelin Yürütülmesi

PCR ürünleri jelde yürütülmek üzere parafin film üzerinde jel yükleme solüsyonu (Orange-G) ile karıştırıldı ve kuyucuklara pipetlendi. Jelin birinci kuyucuğuna 2 µl marker DNA (GeneRuler 100 Bp, Fermentas, Glen Burnie, MD, USA) konuldu ve 190 Volt (V) elektrik akımı verildi, yürütme işlemi yapıldı (PowerPac Basic, Biorad). Jel Görüntüleme Cihazı (Gel Doc, Biorad) ile fotoğrafları çekildi (Şekil 3.4), elde edilen görüntüler bilgisayar ortamına aktarıldı.

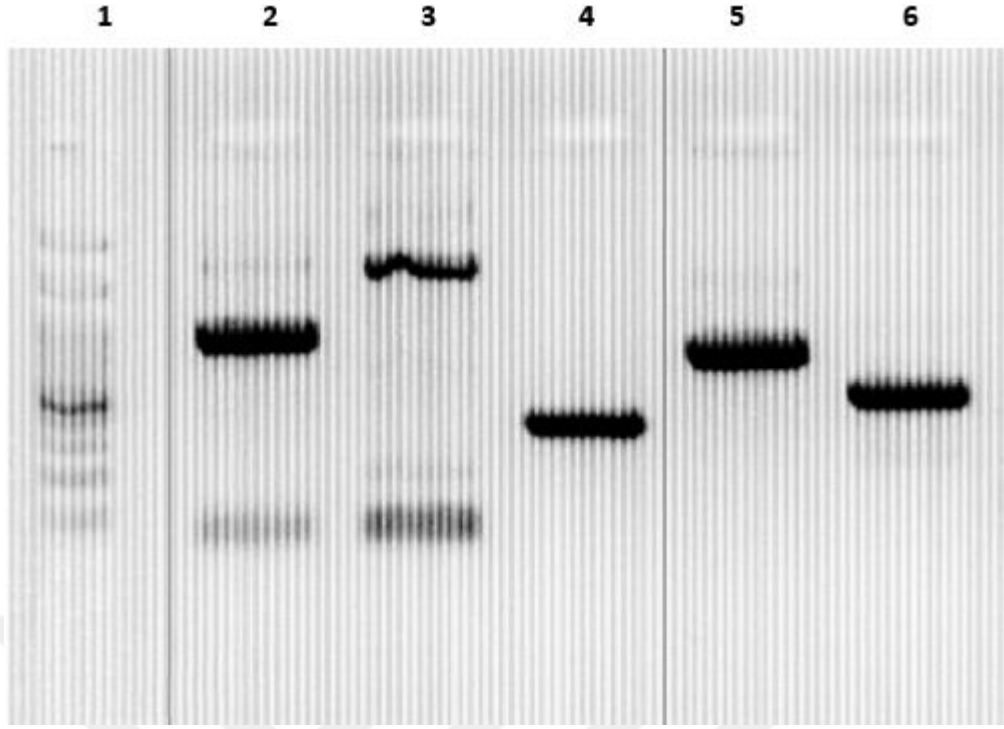
(a)



(b)



Şekil 3.4. (a) Jel yürütme tankı, (b) Jel görüntüleme cihazı (Biorad-UV Transilluminator)



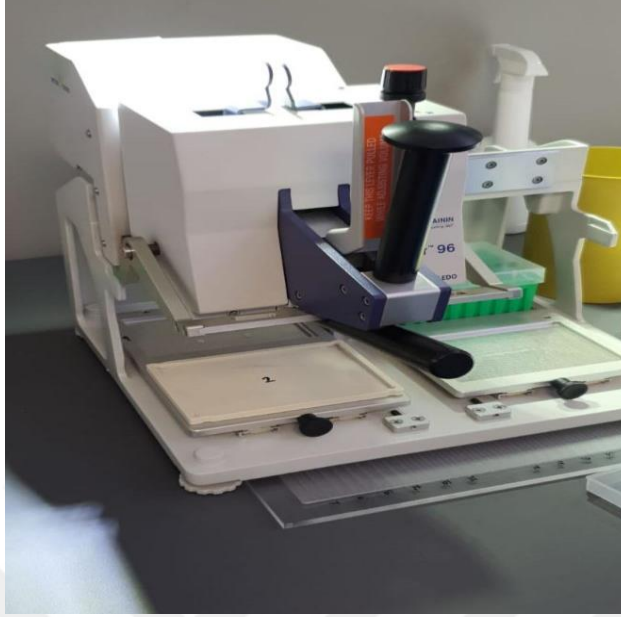
Şekil 3.5. Hasta grubundan H8 nolu hastanın PCR ürünlerinin jel görüntüsü.
1: DNA ladder, 2:IL-17A ekson1 (922 bç), 3:IL-17A ekson 2-3 (1919 bç), 4:IL-17F ekson 1(356 bç), 5: IL-17F ekson 2 (760 bç) ve 6: IL-17F ekson 3'ün (496 bç) PCR ürünleri

PCR ürünlerinin jel görüntüsü Şekil 3.5 'de gösterilmiştir. Her bir örneğe ait PCR ürünleri birleştirilerek PCR havuzları oluşturuldu. PCR havuzları oluşturulurken agaroz jel elektroforezinde tespit edilen bant boyları göz önüne alındı. Daha homojen bir havuz oluşturmak için amplifikasyonu zayıf olan ve amplicon boyu büyük olan PCR ürünlerinden daha fazla alındı.

3.9. Pürifikasyon, Ölçüm ve Standardizasyon

Elde edilen PCR ürün havuzları NucleoFast® 96 PCR kiti (MACHEREY-NAGEL GmbH), otomatik pipetleme sistemi ve vakum manifoldu kullanılarak pürifiye edildi (Şekil 3.6). Pürifikasyon sonucunda elde edilen ürünler mikrohacim spektrofotometresi ile (Nanodrop 1000 (Thermo Inc.) ölçüldü ve DNA konsantrasyonu 5 ng/µl olacak şekilde seyreltildi.

(a)



(b)



Şekil 3.6. (a) NucleoFast® 96 PCR kiti (MACHEREY-NAGEL GmbH) ile pürifikasyonun yapıldığı otomatik pipetleme sistemi (Liquidator 96, Mettler-Toledo) **(b)** Vakum manifoldu (NucleoVac 96, MACHEREY-NAGEL GmbH).

3.10. Yeni Nesil Dizileme (Next-Generation Sequencing, NGS)

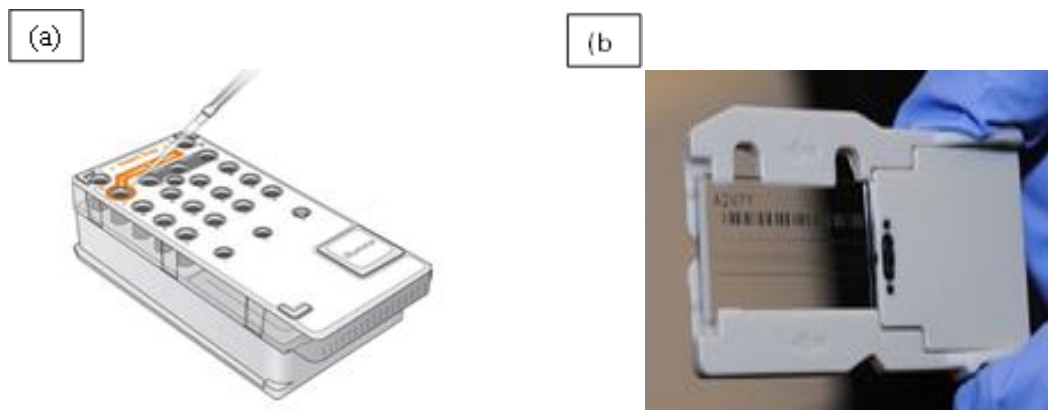
Pürifiye ve standardize edilen PCR havuzları yeni nesil sekanslama için NexteraXT örnek hazırlama kiti (Illumina Inc. San Diego, CA, USA) kullanılarak, hazır hale getirildi. Yeni nesil dizileme için Miseq (Illumina Inc. San Diego, CA, USA) cihazı kullanıldı. Miseq (Illumina Inc. San Diego, CA, USA) yeni nesil DNA

dizileme cihazı örnek hazırlama aşaması için 24 havuzluk çalışma şablonu oluşturuldu. Kütüphane hazırlama aşaması için örneklerin enzimatik fragmentasyonu sağlandı ve referans noktası görevi gören adaptörler adaptör solüsyonları şeklinde bu fragmentlere eklendi (tagmentasyon). Sonrasında indeks primerleri ile PCR reaksiyonuna tabi tutulan her örnek ayrı indeks ile barkodlandı. PCR ürünlerinin saflaştırılması için manyetik beadler ve etanol kullanıldı. Bu etiketlenmiş ve purifiye edilmiş DNA ampikon kütüphaneleri tek tek Qubit (Şekil 3.7) ile ölçüldü. Yapılan ölçümlerden sonra her havuzda 50 ng olacak şekilde örnekler birleştirildi.



Şekil 3.7. Qubit

Örnekler Miseq cihazına (Illumina Inc. San Diego, CA, USA) yüklenmeden önce cihazda numune dosyası oluşturuldu. Yüklenme öncesinde kartuşun içindeki solüsyonların çözündüğünden ve karıştığından emin olmak için kontrolleri yapıldı. Hazırlanan örneğin tamamı pipet ile Miseq Reagent Kit v2 2x150 (MS-102-2002, Illumina Inc.) kartuşunda bulunan örnek yükleme bölmesine yüklendi. Akış hücresi (flow cell) dikkatlice kutusundan çıkarıldı ve cam bölme distile su ile temizlendi ve cihazın akış hücresi bölmesine yerleştirildi. Tüm gen dizi analizinin yapıldığı Miseq (Illumina Inc.) yeni nesil DNA dizileme cihazı, Miseq Reagent Kit v2 2x150 (MS-102-2002, Illumina Inc.) ve Flow cell Şekil 3.9’da gösterilmiştir. Yıkama tamponu ve atık kutusu yerleştirilen cihaz dizileme için hazır duruma getirildi. Son kontrollerden sonra çalışma başlatıldı. Yaklaşık olarak 24 saat sonra çalışma sonuçları Miseq (Illumina Inc. San Diego, CA, USA) cihazından alındı.



3.11. Veri Analizi

3.11.1. Hizalama (Alignment)

Okumaların hizalaması için insan genomu HG19 versiyonu üzerine Miseq Reporter (Illumina Inc.) yazılımı kullanılmıştır. Hizalama sonunda IGV (Integrative Genomics Viewer) (Broad Institute) yazılımı kullanılarak elde edilen bam dosyalarının analizi yapıldı. Analiz, ekson-intron kesişim bölgelerinden itibaren 20 baz çifti içeren bölgeyi kapsayacak şekilde yapıldı. Genotiplenen polimorfizm noktaları için minimum derinlik 20 olarak belirlendi ve 20'nin altında kalan bölgeler PCR aşamasından başlanmak üzere tekrar edildi.

3.11.2. Analiz

IL17A ve *IL17F* genlerinin kodlayan bölgesi ve ekzon-intron kesişim bölgeleri analiz edilmiş ve referans diziden farklılık içeren noktaları Ensemble ve tek nükleotid polimorfizm veritabanı Single Nucleotide Polymorphism Database (dbSNP) veri tabanlarına başvurularak minör alel frekans (MAF) değerleri belirlenmiştir. MAF değerleri 0,01'den büyük olan değişiklikler polimorfizm olarak değerlendirilmiş, 0,01'den küçük olanlar ise hastalığa neden olma etkisi muhtemel değişiklikler olarak değerlendirilmiştir. SNP noktaları bütünleştirici genomik görüntüleyici, Integrative Genomics Viewer (IGV) yazılımında değerlendirilmiştir.

Tablo 3.4. SNP 1,2 ve 3 Hg19 koordinatları

SNP	Hg19 referans (wt: wild type- yabanıl tip alel)	Mut: Mutant alel	Hg19 koordinat
SNP 1 (rs2275913)	G	A	chr6:52,051,033
SNP 2 (rs8193036)	C	T	chr6:52,050,493
SNP 3 (rs763780)	T	C	chr6:52,101,739

3.12. İstatistiksel Analiz

Çalışmanın güç analizine göre; alfa hatası 0.05, beta hatası 0.05 ve etkinlik boyutu %50 ayarlandığında %80 güç elde etmek için toplam 127 hastaya ihtiyaç olduğu gösterilmiştir. Analizler IBM SPSS 25.0 ve R 4.0.4 epitools paketi kullanılarak yapılmıştır. Sürekli değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma olarak belirtilmiştir. Normal dağılım Kolmogorov-Smirnov testi ile incelenip normal dağılım şartlarını sağlayan gruplar Student's t test; sağlamayanlar ise Mann-Whitney U testi ile değerlendirilmiştir. Kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak ifade edilmiştir. Üç SNP için Hardy-Weinberg dengesinin (Hardy-Weinberg Equilibrium) incelenmesinde Ki-kare (Chi-square) testi kullanılmıştır. Hasta ve kontrol grupları için genotip ve alel frekansları, odds oranları ve %95 güven aralıkları ile birlikte gösterilmiştir. Çoklu SNP analizlerinde beklenen değerlerin hesaplanmasında iteratif EM (Expectation Maximization) algoritması kullanılmıştır. Tüm analizler çift yönlü ve istatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Astım İçin Küresel Girişim Rehberi'nde (2) belirtilen kriterler esas alınarak astım tanısı alan 65 hasta ve sistemik hastalığı olmayan 62 gönüllünün dahil edildiği çalışmada her iki grupta *IL-17A* geni -197G>A (rs2275913), -737C>T (rs8193036) ve *IL-17F* geni 7488 T>C (rs763780) polimorfizmleri değerlendirilmiştir. Ortalama yaş; astımlı hasta grubunda 43.71±13.22, kontrol grubunda 40.74±12.65 olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmedi (p=0.172). Çalışmaya katılan hastalardan 44'ü kadın (%68), 21'i erkek (%32) idi. Çalışmaya katılan kontrol grubunun 31'i kadın (%50), 31'i erkek (%50) idi. Grupların yaş dağılımı Tablo 4.1'de, grupların cinsiyet dağılımı Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Grupların yaş dağılımı

Grup	Sayı	Ort.	Std.Dev	Min	Max	p
Hasta	65	43.71	13.22	19.00	69	0.172
Kontrol	62	40.74	12.65	19.00	78	

*Mann-Whitney U testi

Tablo 4.2. Grupların cinsiyet dağılımı

	Erkek	Kadın
Toplam	52 (%41)	75 (%59)
Hasta	21 (%32)	44 (%68)
Kontrol	31(%50)	31 (%50)

*Mann-Whitney U testi

IL-17A geni SNP1 -197G>A, SNP2 -737C>T ve *IL-17F* geni SNP3 7488 T>C polimorfizmlerinde gruplar arasında cinsiyete bağlı farklılık gözlenmemiştir (sırasıyla Tablo 4.3, 4.4. ve 4.5) (SNP1 genotipler için p=0,478 ve aleller için p=0,399, SNP2 genotipler için p=0.499 ve aleller için p=0.37, SNP3 genotipler için p=0.638 ve aleller için p=0.403).

Tablo 4.3 SNP1 *IL-17A* geni -197G>A genotip ve alel frekanslarının cinsiyete göre dağılımı

		Cinsiyet				p
		Erkek		Kadın		
		Sayı	%	Sayı	%	
SNP1 (rs2275913)	GA	23	44,2	26	34,7	0,478
	GG	24	46,2	38	50,7	
	AA	5	9,6	11	14,7	
	G	47	90,4	64	85,3	0,399
	A	5	9,6	11	14,7	

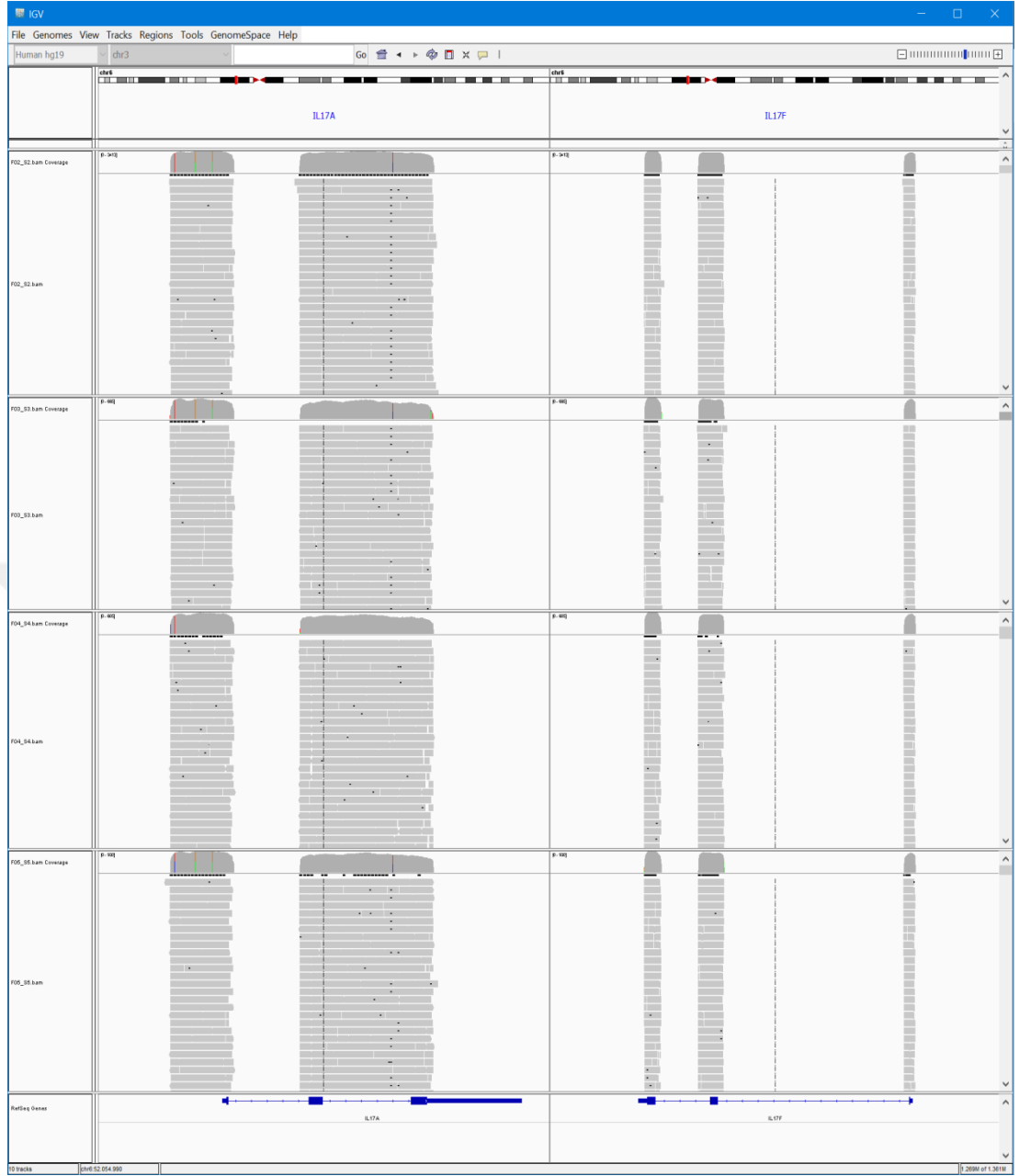
Tablo 4.4. SNP2 *IL-17A* geni -737C>T genotip ve alel frekanslarının cinsiyete göre dağılımı

		Cinsiyet				p
		Erkek		Kadın		
		Sayı	%	Sayı	%	
SNP2 (rs8193036)	CC	4	7,7	3	4,0	0.499
	CT	16	30,8	29	38,7	
	TT	32	61,5	43	57,3	
	C	4	7,7	3	4,0	0.37
	T	48	92,3	72	96,0	

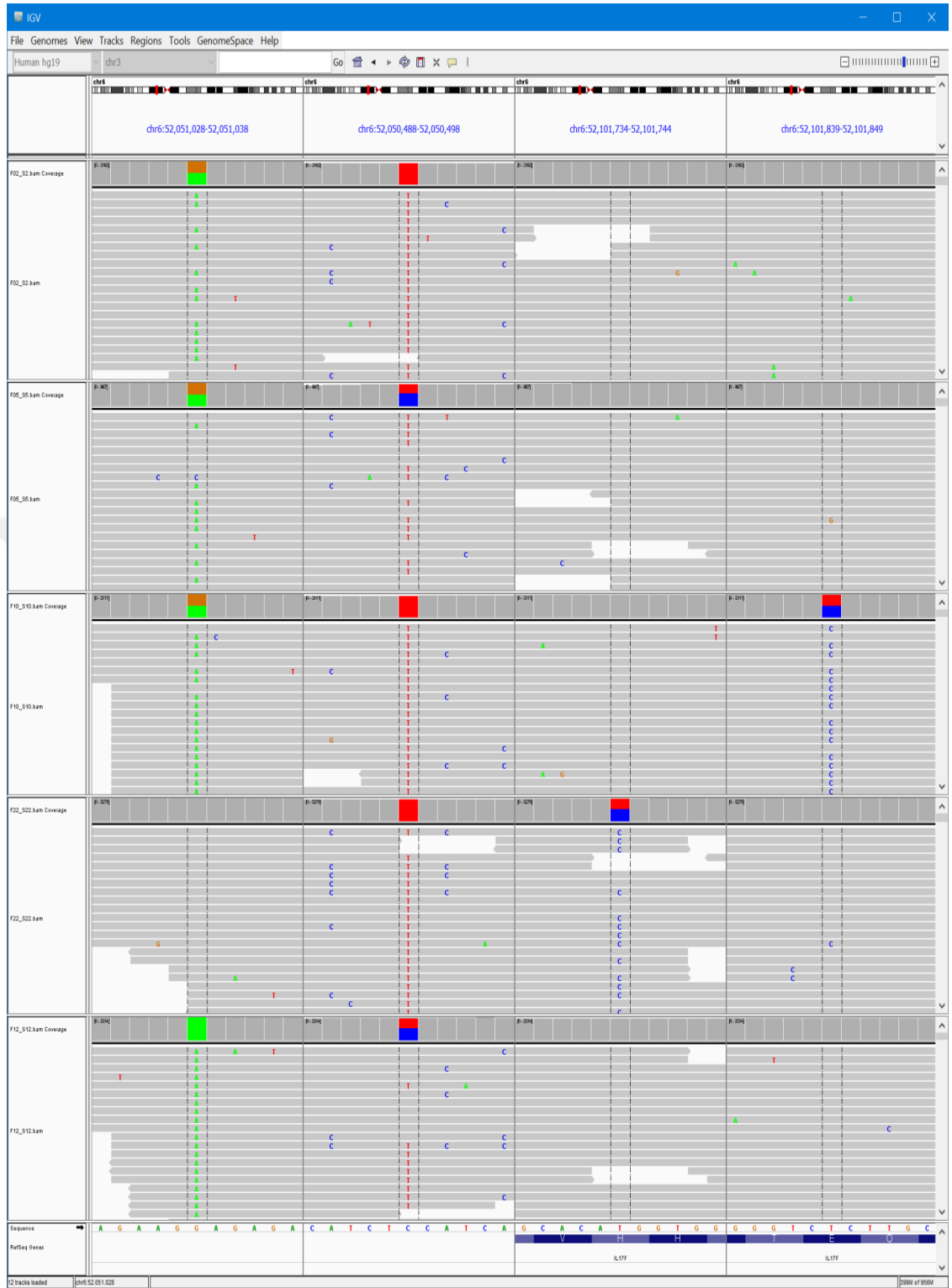
Tablo 4.5. SNP3 *IL-17F* geni 7488T>C genotip ve alel frekanslarının cinsiyete göre dağılımı

		Cinsiyet				p
		Erkek		Kadın		
		Sayı	%	Sayı	%	
SNP3 (rs763780)	CC	0	0,0	1	1,3	0.638
	TC	5	9,6	9	12,0	
	TT	47	90,4	65	86,7	
	C	0	0,0	1	1,3	0.403
	T	52	100,0	74	98,7	

Dizi analizi ve genotipleme amaçlı verilerin IGV programı görünümü Şekil 4.1 ve 4.2’de verilmiştir. Hasta ve kontrol grubunda tespit edilen genotip sonuçları Tablo 4.6 ve 4.7’de verilmiştir.



Şekil 4.1. Kontrol grubundan dört örneğe (K-9, K10, K11 ve K12) ait dizi analizi amaçlı verinin IGV’de görünümü



Şekil 4.2. Kontrol grubundan beş örneğe (K9, K12, K27, K17 ve K30) ait genotipleme amaçlı verinin IGV’de görünümü

Tablo 4.6. Hasta grubunda tespit edilen genotipler

Hasta no	DNA kod	rs2275913	rs8193036	rs763780	Hasta no	DNA kod	rs2275913	rs8193036	rs763780
1	HI-01	GA	CT	TT	34	HI-34	GA	CT	TT
2	HI-02	GG	CT	TT	35	HI-35	AA	CT	TC
3	HI-03	GA	CC	TT	36	HI-36	GA	TT	TT
4	HI-04	GA	CC	TT	37	HI-37	GA	CT	TT
5	HI-05	GG	CT	TT	38	HI-38	GA	CT	TC
6	HI-06	GG	CT	TT	39	HI-39	GG	TT	TC
7	HI-07	GG	TT	TT	40	HI-40	GG	CT	TT
8	HI-08	AA	CT	TT	41	HI-41	GG	TT	TT
9	HI-09	AA	TT	TT	42	HI-42	GG	TT	TT
10	HI-10	GG	TT	TT	43	HI-43	GG	TT	TT
11	HI-11	GG	CT	TT	44	HI-44	GG	CT	TT
12	HI-12	GG	CT	TC	45	HI-45	GA	TT	TT
13	HI-13	GA	TT	TT	46	HI-46	AA	TT	TT
14	HI-14	AA	TT	TT	47	HI-47	GG	CT	TT
15	HI-15	GA	TT	TT	48	HI-48	GG	CC	CC
16	HI-16	GA	CT	TC	49	HI-49	GA	TT	TT
17	HI-17	GG	TT	TT	50	HI-50	GG	CT	TT
18	HI-18	GG	TT	TT	51	HI-51	GG	CT	TT
19	HI-19	GG	CT	TC	52	HI-52	GA	TT	TT
20	HI-20	GA	CT	TT	53	HI-53	GG	TT	TT
21	HI-21	GG	CT	TC	54	HI-54	GA	TT	TT
22	HI-22	GG	TT	TT	55	HI-55	AA	TT	TT
23	HI-23	GA	TT	TT	56	HI-56	AA	TT	TT
24	HI-24	GA	CT	TT	57	HI-57	GG	TT	TT
25	HI-25	AA	TT	TT	58	HI-58	GA	CT	TT
26	HI-26	GG	TT	TC	59	HI-59	GA	CC	TT
27	HI-27	GG	CT	TT	60	HI-60	GG	TT	TT
28	HI-28	GG	TT	TT	61	HI-61	GA	CT	TC
29	HI-29	GG	TT	TT	62	HI-62	GG	CT	TT
30	HI-30	GG	TT	TT	63	HI-63	GA	TT	TT
31	HI-31	AA	TT	TT	64	HI-64	AA	CT	TT
32	HI-32	AA	TT	TT	65	HI-65	GG	TT	TC
33	HI-33	GA	TT	TT					

Tablo 4.7. Kontrol grubunda tespit edilen genotipler

Hasta no	DNA kod	rs2275913	rs8193036	rs763780	Hasta no	DNA kod	rs2275913	rs8193036	rs763780
1	K-01	GA	CT	TT	32	K-32	GA	TT	TT
2	K-02	GG	CC	TT	33	K-33	GG	TT	TT
3	K-03	GA	TT	TT	34	K-34	GG	TT	TT
4	K-04	AA	CT	TT	35	K-35	GG	TT	TT
5	K-05	GA	TT	TT	36	K-36	GG	TT	TT
6	K-06	GG	CT	TT	37	K-37	GG	CT	TT
7	K-07	GA	TT	TC	38	K-38	GG	TT	TT
8	K-08	GA	TT	TT	39	K-39	GA	CT	TT
9	K-09	GA	TT	TT	40	K-40	GG	TT	TT
10	K-10	GG	TT	TT	41	K-41	GG	TT	TT
11	K-11	GA	CT	TT	42	K-42	GA	TT	TT
12	K-12	GA	CT	TT	43	K-43	GG	TT	TT
13	K-13	GA	CT	TT	44	K-44	GG	TT	TT
14	K-14	GG	TT	TT	45	K-45	GG	CT	TT
15	K-15	GA	TT	TT	46	K-46	GG	CT	TT
16	K-16	GG	TT	TC	47	K-47	GA	TT	TT
17	K-17	GA	TT	TT	48	K-48	GG	TT	TT
18	K-18	GG	TT	TT	49	K-49	GA	TT	TT
19	K-19	GA	CT	TT	50	K-50	AA	CT	TT
20	K-20	GG	TT	TT	51	K-51	GG	CT	TC
21	K-21	GA	CT	TT	52	K-52	GA	CC	TT
22	K-22	GG	TT	TT	53	K-53	GG	TT	TT
23	K-23	GA	TT	TT	54	K-54	GG	TT	TT
24	K-24	GG	TT	TT	55	K-55	GA	TT	TT
25	K-25	GG	TT	TT	56	K-56	AA	TT	TC
26	K-26	GA	TT	TT	57	K-57	GG	TT	TT
27	K-27	GA	TT	TT	58	K-58	GA	CT	TT
28	K-28	AA	CT	TT	59	K-59	GA	TT	TT
29	K-29	GA	CT	TT	60	K-60	GG	TT	TT
30	K-30	GG	TT	TT	61	K-61	GA	CT	TT
31	K-31	GG	CT	TT	62	K-62	AA	CC	TT

Tüm örneklerde, SNP1 *IL-17A* geni -197 G>A (rs2275913) polimorfizmi alel analizinde G aleli sıklığı %68 (n=178), A aleli sıklığı %32 (n=81) saptanmıştır. SNP1 *IL-17A* geni -197G>A polimorfizmi genotip analizinde 16 (%13) homozigot mutant genotip AA, 62 (%49) homozigot yabanıl (wild) genotip GG ve 49 (%39) heterozigot genotip GA bulundu (Tablo 4.8).

SNP2 *IL-17A* geni -737 C>T (rs8193036) polimorfizmi alel analizinde T aleli sıklığı %77 (n=195), C aleli sıklığı %23 (n=59) saptanmıştır. SNP2 *IL-17A* geni -737C>T polimorfizmi genotip analizinde 75 (%59) homozigot mutant genotip TT, 7

(%6) homozigot yabancı (wild) genotip CC ve 45 (%35) heterozigot genotip TC bulundu (Tablo 4.9).

SNP3 *IL-17F* geni 7488T>C (rs763780) polimorfizmi alel analizinde C aleli sıklığı %6 (n=16), T aleli sıklığı %94 (n=238) saptanmıştır. SNP3 *IL-17F* geni 7488T>C polimorfizmi genotip analizinde 1 (%1) homozigot mutant genotip CC, 112 (%88) homozigot yabancı (wild) genotip TT, ve 14 (%11) heterozigot genotip TC bulundu (Tablo 4.10).

Tablo 4.8. SNP1 *IL-17A* geni -197G>A alel ve genotip frekansları

	Tüm örnekler		Hasta		Kontrol	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
G	173	68	86	66.2	87	70.2
A	81	32	44	33.8	37	29.8
GA	49	39	22	33.8	27	43.5
GG	62	49	32	49.2	30	48.4
AA	16	13	22	16.9	5	8.1

Tablo 4.9. SNP2 *IL-17A* geni -737C>T alel ve genotip frekansları

	Tüm örnekler		Hasta		Kontrol	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
C	59	23	34	26.2	25	20.2
T	195	77	96	73.8	99	79.8
CC	7	6	4	6.2	3	4.8
CT	45	35	26	40	19	30.6
TT	75	59	35	53.8	40	64.5

Tablo 4.10. SNP3 *IL-17F* geni 7488T>C alel ve genotip frekansları

	Tüm örnekler		Hasta		Kontrol	
	Sayı	%	Sayı	%	Sayı	%
C	16	6	12	9.2	4	3.2
T	238	94	118	90.8	120	96.8
CC	1	1	1	1.5	0	0
TC	14	11	10	15.4	4	6.5
TT	112	88	54	83.1	58	93.5

Tüm örneklemin genotip frekans dağılımının Hardy-Weinberg dengesi ile uyumlu olduğu saptanmıştır ($p>0.05$). *IL-17A* geni -197G>A, -737C>T ve *IL-17F* geni 7488T>C polimorfizmleri alel ve genotip Hardy-Weinberg dengesi için Exact test sonuçları sırasıyla Tablo 4.11’de verilmiştir.

Tablo 4.11. Hardy-Weinberg dengesi için Exact test (n=127)

SNP1	GG	GA	AA	G	A	p
Tüm örnekler	62	49	16	173	81	0.22
Hasta	32	22	11	86	44	0.054
Kontrol	30	27	5	87	37	0.99
SNP2	CC	TC	TT	C	T	p
Tüm örnekler	75	45	7	195	59	0.99
Hasta	35	26	4	96	34	0.99
Kontrol	40	19	3	99	25	0.7
SNP3	TT	TC	CC	T	C	p
Tüm örnekler	112	14	1	238	16	0.4
Hasta	54	10	1	118	12	0.43
Kontrol	58	4	0	120	4	0.99

Yaş ve cinsiyete göre ayarlanmış genotip modelleri incelendiğinde, SNP1 *IL-17A* geni -197G>A polimorfizmi için bireylerde hastalık riski açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür (Tablo 4.12).

Tablo 4.12. SNP1 *IL-17A* geni -197G>A genotip dağılımı
(H:Hasta; K:Kontrol; OR:Odds Ratio)

SNP1 <i>IL-17A</i> geni -197G>A (rs2275913)	Genotip	Hasta	Kontrol	OR (95% CI)	p-değeri
	GG	32 (49.2%)	30 (48.4%)	Referans	0.351
	GA	22 (33.9%)	27 (43.5%)	0.76 (0.35-1.64)	
	AA	11 (16.9%)	5 (8.1%)	1.86(0.56-6.146)	
	GG+GA	54 (83.1%)	57 (91.9%)	Referans	0.204
	AA	11 (16.9%)	5 (8.1%)	2.1 (0.67-6.59)	
	G Alel	86 (66.2%)	87 (70.1%)	Referans	0.49
	A Alel	44 (33.8%)	37 (29.9%)	1.20 (0.7-2.04)	

Yaş ve cinsiyete göre ayarlanmış modeller incelendiğinde SNP2 *IL-17A* geni -737C>T için bireylerde hastalık riski açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görülmüştür (Tablo 4.13).

Tablo 4.13. SNP2 *IL-17A* geni -737C>T genotip dağılımı
(H:Hasta; K:Kontrol; OR:Odds Ratio)

SNP2 <i>IL-17A</i> geni -737C>T (rs8193036)	Genotip	Hasta	Kontrol	OR (95% CI)	p-değeri
	CC	4 (6.2%)	3 (4.8%)	Referans	0.47
	CT	26 (40%)	19 (30.6%)	1.02 (0.20-5.13)	
	TT	35 (53.9%)	40 (64.5%)	0.65 (0.13-3.13)	
	TT	35 (53.9%)	40 (64.5%)	0.64 (0.31-1.30)	0.22
	CC+CT	30 (46.1%)	22 (35.5%)	Referans	
	C Alel	34 (26.2%)	25 (20.1%)	Referans	0.26
	T Alel	96 (73.8%)	99 (79.9%)	0.71 (0.39-1.28)	

Yaş ve cinsiyete göre ayarlanmış modeller incelendiğinde SNP3 *IL-17F* geni 7488T>C polimorfizmi için C aleli hasta grubunda 12 (%9.3) hastada, kontrol grubunda ise 4 (%3.2) bireyde saptandı. T aleli hasta grubunda 118 (%90.7) hastada, kontrol grubunda ise 120 (%96.8) bireyde saptandı. C aleli taşıyan bireylerde önemli ölçüde daha yüksek hastalık riski olduğu gözlemlendi. C aleline sahip bireylerde hasta olma riski T aleline sahip bireylerden 2.9 kat daha fazladır ve bu değişim istatistiksel olarak anlamlıdır (C vs T, OR=2.9, 95% CI =0.98-11.19, p=0.048) (Tablo 4.14).

Tablo 4.14. SNP3 *IL-17F* geni 7488T>C genotip dağılımı
(H:Hasta; K:Kontrol; OR:Odds Ratio)

SNP3 <i>IL-17F</i> geni 7488T>C (rs763780)	Genotip	Hasta	Kontrol	OR (95% CI)	p-değeri
	TT	54 (83.1%)	58 (93.5%)	Referans	0.275
	TC	10 (15.4%)	4 (6.5%)	2.80 (0.797-9.87)	
	CC	1 (1.5%)	0 (0%)	0.00 (0.00-0.00)	
	TT+TC	64 (98.5%)	62 (100%)	Referans	-
	CC	1 (1.5%)	0 (0%)	0.00 (0.00-0.00)	
	T Alel	118 (90.7%)	120 (96.8%)	Referans	0.048*
	C Alel	12 (9.3%)	4 (3.2%)	2.9 (0.98-11.19)	

Toplu SNP ile hastalık arasındaki ilişkiyi ortaya çıkarmak için çoklu SNP analizinde Beklenti Maksimizasyon algoritması [Expectation Maximization algorithm (EM)] kullanılarak *IL-17A* geni -197G>A, -737C>T ve *IL-17F* geni 7488T>C polimorfizmleri için alellerin bir araya gelme olasılığı incelenmiştir (Tablo 4.15). Kümülatif frekanslar arasında GTT frekansının en yaygın frekans olduğu görülmüş olup bu haplotip referans haplotip olarak alınmıştır (H:%44.64, K:%60.55). GTT haplotip taşıyıcıları ile karşılaştırıldığında ATT ve GCT haplotip taşıyıcılarının hastalık riskini istatistiksel olarak önemli ölçüde arttırdığı bulunmuştur (Tablo 4.16). Yaş ve cinsiyet için lojistik regresyon modeli düzeltildiğinde, ATT haplotipine sahip olmak hastalık riskini 0,39 kat artırırken, GCT haplotipine sahip olmak hastalık riskini 0,28 kat arttırmaktadır (sırasıyla p=0.024, p=0.033). Global haplotip

ilişkilendirme p değerinin 0.016 olması, analiz için yaptığımız kurulumun ve analizimizin doğruluğunun bir yansımasıdır.

Tablo 4.15. Çoklu SNP analizi, haplotip frekansları tahmini (n=127)

SNP1 rs2275913	SNP2 rs8193036	SNP3 rs763780	Total	Hasta	Kontrol	Kümülatif frekanslar
G	T	T	0.5198	0.4464	0.6055	0.5198
A	T	T	0.2175	0.2637	0.1673	0.7372
G	C	T	0.1118	0.1378	0.0786	0.849
A	C	T	0.088	0.0599	0.1163	0.937
G	C	C	0.0274	0.049	0.0067	0.9644
G	T	C	0.0222	0.0284	0.0108	0.9866
A	T	C	0.0083	0	0.0148	0.9949
A	C	C	0.0051	0.0149	-	1

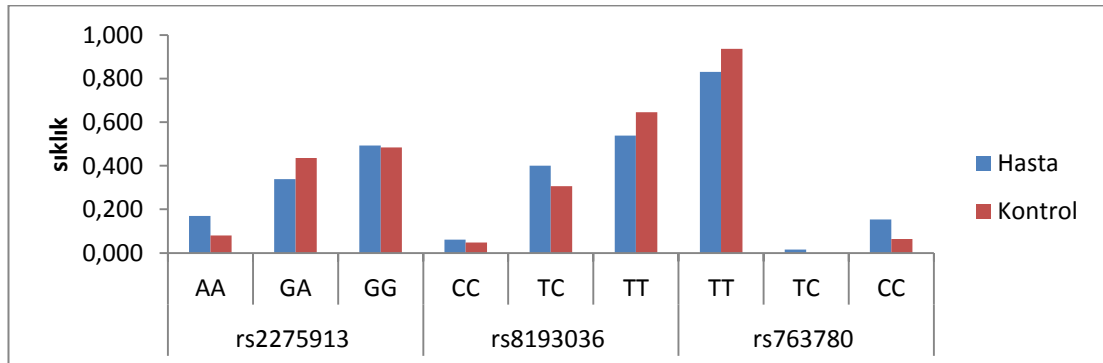
İki aşamalı yinelemeli EM algoritması ile elde edildi.

Tablo 4.16. Haplotip analizi (n=127)

	SNP1 rs2275913	SNP2 rs8193036	SNP3 rs763780	sıklık	OR (95% CI)	P
1	G	T	T	0.5243	Referans	---
2	A	T	T	0.2129	0.39(0.18- 0.88)	0.024*
3	G	C	T	0.1078	0.28 (0.09- 0.89)	0.033*
4	A	C	T	0.092	1.19 (0.37- 3.83)	0.77
nadir	-	-	-	0.063	0.20 (0.05- 0.73)	0.017*

*Global haplotip ilişkisi p değeri: 0.016

Genotip sıklıklarının grafiği Şekil 4.3’de verilmiştir. Hasta grubunda *IL-17 F* geni 7488T>C polimorfizmi için C aleli sıklığının daha yüksek olduğu görülmektedir.



Şekil 4.3. Genotip sıklığı grafiği

5. TARTIŞMA

Astım son yıllarda daha sık görülen bir hastalık haline gelmiştir. Her yıl mevcut astımlı hastalara 100 milyon yeni hasta ekleneceği tahmin edilmektedir. Astım önemli bir morbidite ve mortalite nedenidir (1-4). Astım etyopatogenezinde sitokin ve kemokinler önemli hücrel araçlardır. İnterlökin-17 sitokinler, kemokinler ve transkripsiyon faktörleri gibi çeşitli mediyatörlerin ekspresyon seviyesini düzenleyerek immün ve inflamatuvar yanıtta etkili olmaktadır (16). IL-17 astım patogenezinde önemli rol oynayan anahtar belirleyicilerden birisidir (133). Fare modelinde yapılan bir çalışmada aşırı *IL-17F* gen ekspresyonu ile, hava yolu aşırı duyarlılığı, goblet hücre hiperplazisi ve müsin gen ekspresyonu gibi alerjik inflamatuvar yanıtlarda artma gözlenmiştir (134).

İnsan genom dizilemesindeki son gelişmeler yeni genlerin keşfini kolaylaştırmıştır. *IL-17* gen ailesi de 2000-2002 yılları arasında keşfedilmiştir (135). *IL-17* gen polimorfizmlerinin, astım, romatoid artrit ve inflamatuvar bağırsak hastalığı gibi çeşitli otoimmün hastalıklarla ilişkili olduğu gösterilmiştir (122,123). Farklı popülasyonlarda yapılan çalışmalarda *IL-17A* ve *IL-17F* tek nükleotid polimorfizmlerinin astım duyarlılığı için potansiyel risk faktörü olabileceği belirtilmiştir (120).

DNA dizi varyasyonlarının en yaygın türü olan SNP'ler genom içindeki konumuna bağlı olarak, gen ekspresyonu düzeyinde çeşitli etkiler oluşturabilir (128,129). Çalışmamızda 6. kromozomun 6p12 konumunda bulunan *IL-17A* geni -197G>A (rs2275913) , -737C>T (rs8193036) ve *IL-17F* geni 7488T>C (rs763780), polimorfizmlerinin astım hastalığı ile ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır. *IL-17A* geni promotor -737C>T polimorfik bölgesi *IL-17A*'nın başlangıç kodonuna göre -737 konumunda bulunmaktadır. *IL-17A* geni promotor -197G>A polimorfik bölgesi, *IL-17A*'nın başlangıç kodonuna göre -197 konumunda bulunmaktadır (136). Gen promotörünü etkileyen SNP'ler, transkripsiyon faktörü bağlanma bölgesini değiştirerek genin transkripsiyon oranını etkileyebilmektedir (137). Araştırdığımız *IL-17F* geni 7488T>C polimorfizmi ise *IL-17F* geni üzerinde kodlayan bölgede yer

almaktadır. Bu polimorfik bölge *IL-17F* geninin üçüncü ekzonunda bulunur ve aminoasit 161'de histidin yerine arginin gelmesine (H161R varyantı) neden olan yanlış anlamlı (missense) bir varyasyondur (135).

IL-17F H161R varyantının, yabanıl (wild) tip *IL-17F*'nin aksine bronşiyal epitel hücrelerinde mitojenle aktive olan protein kinaz yolunu, sitokin üretimini ve kemokin üretimini aktive etme yeteneğinden yoksun olduğu gösterilmiştir. İn vitro analizler *IL-17F*'nin H161R varyantının, hava yollarında alerjik inflamasyonu azaltarak astım gelişme riskini azalttığını göstermiştir. *IL-17F*'nin H161R varyantı, *IL-17F*'nin doğal bir antagonisti gibi hareket etmektedir. Amino asit 161'de histidinden arjinine olan değişikliğin proteinin çekirdek yapısını etkilemediği, bununla birlikte, *IL-17F*'nin reseptörüne bağlanma affinitesini etkileyebileceği belirtilmiştir. Polimorfik *IL-17F*, yabanıl (wild) tip *IL-17F* fonksiyonunu antagonize etmesine rağmen sinyal yolunu aktive etmemektedir. Polimorfik *IL-17F*'nin antagonistik aktivitesinin yapısal temeli halen belirsizdir, nasıl antagonistik etki oluşturduğunu açıklığa kavuşturmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Bu antagonistik durum astımda *IL-17F*'nin tedavi hedefi olarak önemli bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir (135). *IL-17F* geni 7488T>C polimorfik bölgesi TC heterozigotluğu yani H161R'nin heterozigot varyantının Japon popülasyonunda astıma karşı koruyucu bir etki gösterdiği belirtilmiştir (p=0.0028). Aynı çalışmada *IL-17F* geni 7488T>C polimorfik bölgesi CC homozigot genotipinin oldukça düşük frekanslı olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada H161R varyantının popülasyon düzeyinde hastalığa önemli ölçüde katkıda bulunmamasına sebep olarak CC homozigot genotipinin düşük frekansta olması gösterilmiştir (135). Popüler bir hipotez; yaygın hastalıkların altında yatan genetik faktörün genel popülasyonda oldukça yaygın olan aleller olduğunu öne sürmektedir. Bu çalışmada da teorik olarak H161R varyantının astıma karşı koruyucu olmasına rağmen popülasyonda etkisini yeteri kadar göstermediğine dikkat çekilmiştir (135). Çalışmamızda da *IL-17F* geni 7488T>C polimorfik bölgesi için C aleli ve CC genotipinin oldukça düşük frekansda bulunduğu, fakat bu çalışmadan farklı olarak *IL-17F* geni 7488T>C polimorfizminin astım hastalığı için hastalığı arttırıcı yönde etkili olduğu gösterilmiştir.

Ramsey ve arkadaşları tarafından yapılan dizileme çalışmasında, *IL-17F* geninde toplam 50 SNP Afrikalı-Amerikalı ve Avrupalı-Amerikalı 1027 kadın astım

hastasında incelenmiştir. Çalışma, astım ve *IL-17F* polimorfizmleri arasında *IL-17F* geni 7488T>C polimorfizmi de (H161R varyantı) dahil olmak üzere hiçbir ilişki olmadığını göstermiştir (99).

Maalmi ve arkadaşları tarafınca yapılan çalışmada ise Tunus astım popülasyonunda *IL-17A* geni -197G>A, *IL-17F* geni 7488A>G ve *IL-17F* geni 7383A>G polimorfizmleri PCR RFLP [(Restriksiyon Fragment Length Polymorphism (Restriksiyon Parça Uzunluk Polimorfizmi))] yöntemi kullanılarak araştırılmış ve sonuç olarak *IL-17A* geni -197G>A ve *IL-17F* geni 7383A>G polimorfizmleri çocuklarda astım ile ilişkili bulunmuştur (sırasıyla $p=0,008$, $p=0,001$). *IL-17F* geni 7488A>G polimorfizmi ve astım arasında herhangi bir ilişki tespit edilememiştir. Bu çalışmada da bizim çalışmamızda olduğu gibi hem vakalarda hem de kontrol grubunda mutant alele kıyasla yabanıl (wild) tip alel baskınlığı olduğu için üç polimorfizm de resesif model altında test edilmiştir (137).

Bazzi ve arkadaşlarının Suudi popülasyonunda yaptığı çalışmada, astım ile *IL-17* genindeki beş SNP [*IL-17A* geni rs17880588 (G>A), rs17878530 (C>T) ve *IL-17F* geni rs763780 (T>C), rs11465553 (T>C), rs2397084 (G>A)] arasındaki ilişki araştırılmıştır. Genotipleme, spesifik primerler ve probler ile PCR kullanılarak gerçekleştirilmiş ve *IL-17A* ve *IL-17F* sitokin seviyeleri, enzime bağlı immünosorbent deneyi kullanılarak plazmada ölçülmüştür. Genotipleme, *IL-17A*'daki rs17880588 AG heterozigot genotipinin kontrol grubunda önemli ölçüde daha yaygın olduğunu göstermiş ($p<0.05$); *IL-17A* ve *IL-17F* düzeyleri ise astım hastalarında daha yüksek saptanmış ve fark *IL-17F* için istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0.025$, t testi). *IL-17F* geni 7488 T>C polimorfizmi ile astım arasında bir ilişki bulunamamıştır (138).

Qian F ve arkadaşları tarafınca Çin popülasyonunda, 318 astımlı hasta ve 352 sağlıklı denekte yapılan bir çalışmada *IL-17F* geni 7488 T>C ve 9576A>G polimorfizmleri için verileri lojistik regresyon kullanarak analiz ettiklerinde çalışmamızla uyumlu olarak *IL-17F* geni 7488 T>C polimorfizmi C alelinin önemli ölçüde astımla ilişkili olduğu gösterilmiştir ($p=0.0148$). *IL-17F* geni 7488 T>C polimorfik bölgesi TC heterozigot genotipi de artmış astım riski ile ilişkili bulunmuştur (düzeltilmiş OR, 1.58; % 95 CI, 1.06-2.36; $p=0.0148$). Bu ilişkinin daha

yüksek IgE seviyeleri (≥ 1.85 IU / mL) olan hastalarda belirgin olduğunu da göstermişlerdir. Bu çalışmada da diğer çalışmalarla ve bizim çalışmamızla uyumlu olarak C aleli düşük frekanslı olarak bulunmuştur (53).

Liang ve arkadaşlarının Çin popülasyonunda 221 astım hastası ve 223 sağlıklı kontrol ile yaptığı çalışmada, *IL-17* tek nükleotid polimorfizmi PCR-RFLP yöntemi ile araştırılmış ve sekanslama yöntemi ile doğrulanmıştır. *IL-17F* geni 7488 T>C polimorfizmi incelendiğinde astım hastalarında çalışmamızda bulduğumuz gibi C aleli sağlıklı kontrollerden daha sık saptanmıştır. Astım hastalarında C taşıyıcılarının (CT+CC) anlamlı olarak daha yüksek olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada da C aleli frekansı T aleli frekansına göre hasta ve kontrol grubunda düşük bulunmuştur (140).

Asya popülasyonunda Du J ve arkadaşlarının, 125 astımlı hasta ve 132 sağlıklı kişide yaptığı çalışmada çalışmamızda araştırılan SNP'ler araştırılmış *IL-17F* geni 7488A>G, *IL-17A* geni -197G>A ve -737C>T polimorfizmleri PCR-RFLP yöntemi ile belirlenmiş ve analiz için Meta-analiz 2.0 yazılımı kullanılmıştır. Astım hastalarının sağlıklı kontrollere göre *IL-17A* geni -197G>A polimorfik bölgesinde GA heterozigot genotipi ve *IL-17A* geni -737C>T polimorfik bölgesinde TT homozigot genotipinde daha yüksek frekanslar gösterdiği ortaya çıkmıştır (her ikisi de $p < 0.001$). Astım hastaları ve sağlıklı kontroller arasındaki *IL-17F* geni 7488A>G polimorfizmi, alel modellerinde istatistiksel olarak farklılık göstermemiştir ($p > 0.05$). Bu çalışma *IL-17A* geni -197G>A ve -737C>T polimorfizmlerinin astım duyarlılığı ile ilişkili olabileceğini ve *IL-17A* geni -197G>A polimorfik bölgesi için GA heterozigot genotipinin ve *IL-17A* geni -737C>T polimorfik bölgesi için TT homozigot genotipinin astım riskinin artmasına katkıda bulunabileceğini ortaya koymuştur. Bizim çalışmamızda ise *IL-17A* geni -197G>A ve -737C>T polimorfizmleri astım ile ilişkili bulunmamıştır (121).

IL-17F geni 7488A>G polimorfizmi astıma yatkınlıkta farklı etnik gruplarda farklı sonuçlar göstermiştir. Etnik gruplar arası tutarsızlığın sadece genetik arka plandaki farklılıklardan değil aynı zamanda çevresel maruziyetteki farklılıklardan da kaynaklanıyor olabileceği düşünülmüştür. Gen-çevre etkileşimleri büyük olasılıkla popülasyonlar arasında farklılık göstermektedir.

Wang JY ve arkadaşlarının Tayvan pediatrik astımlı hasta popülasyonunda yaptığı çalışmada, *IL-17A* geni promoter bölgesindeki -737C>T polimorfizmi ile pediatrik bronşiyal astım arasında yakın bir ilişki olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda *IL-17A* promoter bölgesindeki -737C>T polimorfizmi ile astım arasında anlamlı bir ilişki olmadığı görülmüştür (136).

Birçok çalışma, *IL-17A* geni -197G>A polimorfizmi ile astım riski arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. Toplam 5016 denek içeren on çalışmanın dahil edildiği bir meta analizin sonuçları *IL-17A* geni -197G>A polimorfizmi ile astım riski arasında bir ilişki olduğunu göstermiştir. *IL-17A* geni -197G>A polimorfik bölgesinde G alelinin astım gelişimi için koruyucu bir faktör olduğu belirtilmiştir. Yaşa ve etnik kökene göre alt grup analizinde, *IL-17A* geni -197G>A polimorfik bölgesinde G aleli çocuklarda ve Asyalılarda azalmış astım riski ile önemli ölçüde ilişkilendirilmiştir (141). Bizim çalışmamızda *IL-17A* geni -197G>A polimorfizmi ile astım riski arasında ilişki saptanmamıştır.

Yedi vaka kontrol çalışmasından 2882 astım hastası ve 2093 sağlıklı kontrol grubunun dahil edildiği bir meta analizde *IL-17A* geni -737C>T polimorfizmi ve *IL-17A* geni -197G>A polimorfizmi incelenmiştir. Bu meta analizde *IL-17A* geni -737C>T polimorfizmi astıma karşı koruyucu bulunurken, *IL-17A* geni -197G>A polimorfizminin çalışmamızla uyumlu şekilde astım duyarlılığı ile ilişkili olmadığı gözlenmiştir (142).

Yüz altmış sekiz çocukluk çağında astımlı hasta, 144 bronşiolit hastası ve 205 sağlıklı kontrol grubunun dahil edildiği çalışmada örnekler *IL-17A* geni -197G>A polimorfizmi için PCR-RFLP kullanılarak araştırılmıştır. *IL-17A* geni -197G>A polimorfizmi genotip frekans testinde astım ile ilişkilendirilmiştir ($p=0.03$). Homozigot AA genotipi olan çocukların astım olma olasılığı diğerlerine göre 2,29 kat daha yüksek bulunmuştur ($p=0,001$). *IL-17A* geni -197G>A polimorfik bölgesinde A aleli, astımlılarda anormal akciğer fonksiyonu ve yüksek serum total IgE ile ilişkilendirilmiştir. Bronşiolit hastalarında *IL-17A* geni -197G>A polimorfizmi dağılımı, kontrollerle istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstererek astımdakine yakın bir eğilim göstermiştir. Bu nedenle *IL-17A* geni -197G>A polimorfizminin bronşiyolit popülasyonunda astım riskini değerlendirmek için

belirteçler geliştirmek amaçlı kullanılabileceği belirtilmiştir. Bu çalışmada *IL-17A* geni -197G>A polimorfizminin bakteriyel kolonizasyon ile astım başlangıcını birbirine bağlamak için potansiyel bir köprü olabileceğine dikkat çekilmiştir (143).

Çalışmamızda *IL-17A* geni -197G>A (rs2275913) ve -737C>T (rs8193036), *IL-17F* geni 7488A>G (rs763780) polimorfik bölgelerinin incelenmesinde sekiz farklı haplotip saptanmıştır. GTT haplotipi en yaygın haplotip olarak tespit edilmiş olup, kontrol örneklerinde %60, hasta örneklerinde ise %40 sıklıkta bulunmuştur. Dolayısıyla GTT haplotipi koruyucu haplotip olarak bulunmuştur. İkinci ve üçüncü sıklıkta gözlenen ATT ve GCT haplotipleri ise hasta grubunda kontrol grubundan daha fazla sıklıkta gözlenmiş olup astım hastalığı için yatkınlığa neden olabileceği düşünölmüştür.

Çalışmamızdaki kısıtlamalardan biri, yetersiz hasta sayısıdır. Bu nedenle literatürde farklı sonuçların elde edildiği çalışmalar bulunmaktadır. Bir diğeri ise, çalışmamız COVID-19 pandemisi sırasında yapılmış olduğu için hastalarda ve kontrol grubunda güncel solunum fonksiyon testleri yapılamamıştır. Bu nedenle hasta ve kontrol grubunda solunum fonksiyon testi parametreleri karşılaştırılamamıştır.

Çalışmamız Türk popölasyonunda astım ve *IL-17* gen polimorfizmleri arasındaki ilişkinin yeni nesil dizileme yöntemi kullanılarak araştırıldığı ilk rapordur. Çalışmamız sonucunda Türk toplumunda astımlı bireylerde *IL-17F* geni 7488T>C (rs763780) polimorfizminin astım hastalığı gelişimine katkıda bulunabileceği görölmüştür.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Tüm genotipler incelendiğinde, *IL-17A* -197G>A (rs2275913) ve *IL-17A* -737C>T (rs8193036) polimorfizmlerinin Türk toplumunda astım hastalığı gelişme riskini etkilemediği bulunmuştur.

IL-17F 7488T>C (rs763780) polimorfizmi için C aleli taşıyan bireylerde önemli ölçüde daha yüksek astım hastalığı riski olduğu görülmüştür. C aleline sahip kişilerde astım hastası olma riskinin T aleline sahip kişilerden 2.9 kat daha fazla olduğu bulunmuştur (OR=2.9, p=0.048).

Astım ve *IL-17* gen polimorfizmi arasındaki ilişkiyi yeni nesil sekanslama tekniği ile araştırdığımız çalışmamız, astım ve *IL-17* gen polimorfizmleri arasındaki ilişkiyi gösteren Türk popülasyonundaki ilk rapordur.

Astım, poligenik multifaktöriyel bir hastalıktır. *IL-17* polimorfizmlerinin astım gelişme riski açısından farklı popülasyonlarda farklı etkileri olduğu görülmektedir. Etnik gruplar arası tutarsızlığın sadece genetik arka plandaki farklılıklardan değil aynı zamanda çevresel maruziyetteki farklılıklardan da kaynaklanıyor olabileceği düşünülmüştür.

IL-17, astım duyarlılığını tahmin etmede ve astım tedavisinde potansiyel bir aday gen olarak daha fazla sayıda hasta ve kontrol grubunun dahil edildiği çalışmalarla araştırılmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Çelik G, Soyer Ö, Aydın Ö. Türk Toraks Derneği Astım Tanı ve Tedavi Rehberi 2020 Güncellemesi. Ankara, 2020: 38-332.
2. Global Initiative for Asthma (GINA) guidelines. Global strategy for asthma management and prevention (Update 2020). Available from: <https://ginasthma.org/gina-reports>. 10 Ocak 2021.
3. To T, Stanojevic S, Moores G, et al. Global asthma prevalence in adults: findings from the cross-sectional world health survey. *BMC Public Health*. 2012;12:204.
4. Kurt E, Metintas S, Basyigit I, et al. PARFAIT Study of the Turkish Thoracic Society Asthma and Allergy Working Group Prevalence and Risk Factors of Allergies in Turkey (PARFAIT): results of a multicentre cross-sectional study in adults. *Eur Respir J*. 2009;33:724-33
5. Tarraf H, Aydin O, Mungan D, et al. Prevalence of asthma among the adult general population of five Middle Eastern countries: results of the SNAPSHOT program. *BMC Pulm Med*. 2018;18:68.
6. Massoli M, Fabian D, Holt S, Beasley R. Global Initiative for Asthma (GINA) Program. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report. *Allergy* 2004;59:469-78.
7. Bavbek S, Malhan S, Mungan D, Misirligil Z, Erdinc M, Gemicioglu B, Oguzulgen K, Oksuz E, Yıldız F, Yorgancioglu A. Economic burden of severe asthma in Turkey: a cost of illness study from payer perspective. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2020 May 6.
8. Mungan D, Aydin O, Mahboub B, Albader M, Tarraf H, Doble A, Lahlou A, Tariq L, Aziz F, El Hasnaoui A. Burden of disease associated with asthma among the adult general population of five Middle Eastern countries: Results of the SNAPSHOT program. *Respir Med*. 2018 Jun;139:55-64
9. Turkish Thoracic Society Asthma Guideline. *Turkish Thoracic Journal*. 2016;Supplement October(Volume 17).
10. Fahy JV. Type 2 inflammation in asthma--present in most, absent in many. *Nat Rev Immunol*. 2015 Jan;15(1):57-65.
11. Altshuler D, Daly MJ, Lander ES. Genetic mapping in human disease. *Science*. 2008;322:881-888.

12. McCarthy MI, Abecasis GR, Cardon LR, et al. Genome- wide association studies for complex traits: consensus, uncertainty and challenges. *Nat Rev Genet.* 2008;9:356–369.
13. Duffy DL, Martin NG, Battistutta D, Hopper JL, Mathews JD. Genetics of asthma and hay fever in Australian twins. *Am Rev Respir Dis.* 1990;142(6 Pt 1):1351–1358.
14. Harris JR, Magnus P, Samuelsen SO, Tambs K. No evidence for effects of family environment on asthma. A retrospective study of Norwegian twins. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;156:43–49.
15. Raby BA. Asthma severity, nature or nurture: genetic determinants. *Curr Opin Pediatr.* 2019 Jun;31(3):340-348.
16. Babusikova E, Jurecekova J, Jesenak M, Evinova A. Association of Gene Polymorphisms in Interleukin 6 in Infantile Bronchial Asthma. *Arch Bronconeumol.* 2017 Jul;53(7):381-386
17. Ali FR. Does this patient have atopic asthma? *Clin Med (Lond).* 2011 Aug;11(4):376-80.
18. Holgate ST. Genetic and environmental interaction in allergy and asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 1999;104:1139–46.
19. Holt PG, Macaubas C, Stumbles PA, Sly PD. The role of allergy in the development of asthma. *Nature.* 1999;402(Suppl):B12–7
20. Currie GP, Jackson CM, Lipworth BJ. Does bronchial hyperresponsiveness in asthma matter? *J Asthma.* 2004;41(3):247-58.
21. Mochizuki H, Shigeta M, Arakawa H, Kato M, Tokuyama K, Morikawa A. Bronchial hyperresponsiveness before and after the diagnosis of bronchial asthma in children. *Pediatrics* 2000;106:1442-6.
22. Sutherland ER. Linking obesity and asthma. *Ann N Y Acad Sci.* 2014;1311:31–41.
23. Sutherland ER, Goleva E, King TS, et al. Cluster analysis of obesity and asthma phenotypes. *PLoS One.* 2012;7:e36631
24. Boulet L, Franssen E. Influence of obesity on response to fluticasone with or without salmeterol in moderate asthma. *Respir Med.* 2007;101:2240–2247.
25. Cerveri I, Cazzoletti L, Corsico A, et al. The impact of cigarette smoking on asthma: a population- based international cohort study. *Int Arch Allergy Immunol.* 2012;158:175–183.

26. Plaschke PP, Janson C, Norrman E, et al. Onset and remission of allergic rhinitis and asthma and the relationship with atopic sensitization and smoking. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;162:920–924.
27. Chen Y, Dales R, Tang M, et al. Sex- related interactive effect of smoking and household pets on asthma incidence. *Eur Respir J*. 2002;20:1162–1166.
28. Peters JM, Avol E, Navidi W, et al. A study of twelve Southern California communities with differing levels and types of air pollution: I. Prevalence of respiratory morbidity. *Am J Respir Crit Care Med* 1999; 159: 760–7.
29. Van der Vaart H, Postma DS, et al. Acute effects of cigarette smoking on inflammation in healthy intermittent smokers. *Respir Res* 2005; 6: 22.
30. Boulet L-P, Lemiere C, Archambault F, et al. Smoking and asthma: clinical and radiologic features, lung function, and airway inflammation. *Chest* 2006; 129: 661–8.
31. Stapleton M, Howard-Thompson A, George C, Hoover RM, Self TH. Smoking and asthma. *J Am Board Fam Med*. 2011 May-Jun;24(3):313-22.
32. Rosenberg SL, Miller GE, Brehm JM, Celedon JC. Stress and asthma: novel insights on genetic, epigenetic, and immunologic mechanisms. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;134:1009–1015.
33. Çelik G, Mungan D, Bavbek S, Sin B, Ediger D, Demirel Y, Mısırlıgil Z. The Prevalence of Allergic Diseases and Atopy in Ankara,Turkey: *J Asthma* 1999 Dec;36(8):657-663.
34. Platts-Mills TAE. The role of allergens in allergic airway disease. *J Allergy Clin Immunol* 1998;101:S364-366.
35. Jung KH, Hsu S- I, Moors KM, et al. Childhood exposure to fine particulate matter and black carbon and the development of new wheeze between ages 5 and 7 in an urban prospective cohort. *Environ Int*. 2012;45:44–50
36. Togias A, Fenton MJ, Gergen PJ, Rotrosen D, Fauci AS. Asthma in the inner city: the perspective of the National Institute of Allergy and Infectious Diseases. *J Allergy Clin Immunol*. 2010;125:540–544.
37. Matsui EC. Environmental exposures and asthma morbidity in children living in urban neighbourhoods. *Allergy*. 2013;69:553–558.
38. Simons E, Curtin- Brosnan J, Buckley T, Breyse P, Eggleston PA. Indoor environmental differences between inner city and suburban homes of children with asthma. *J Urban Health*. 2007;84:577–590
39. Fuchs O, von Mutius E. Prenatal and childhood infections: implications for the development and treatment of childhood asthma. *Lancet Resp Med*. 2013;1:743–754.

40. Kieninger E, Fuchs O, Latzin P, Frey U, Regamey N. Rhinovirus infections in infancy and early childhood. *Eur Respir J*. 2013;41:443–452.
41. Xepapadaki P, Skevaki CL, Papadopoulos NG. The role of viral and bacterial infections on the development and exacerbations of asthma. In: Carlsen K-H, Gerritsen J, eds. *Paediatric Asthma*. 2012:116–128.
42. Holtzman MJ. Asthma as a chronic disease of the innate and adaptive immune systems responding to viruses and allergens. *J Clin Invest*. 2012;122:2741–2748
43. Holt PG, Sly PD. Viral infections and atopy in asthma pathogenesis: new rationales for asthma prevention and treatment. *Nat Med*. 2012;18:726–735.
44. Sly PD, Boner AL, Bjorksten B, et al. Early identification of atopy in the prediction of persistent asthma in children. *Lancet*. 2008;372:1100–1006.
45. James KM, Gebretsadik T, Escobar GJ, et al. Risk of childhood asthma following infant bronchiolitis during the respiratory syncytial virus season. *J Allergy Clin Immunol*. 2013;132:227–229.
46. Edwards MR, Bartlett NW, Hussell T, Openshaw P, Johnston SL. The microbiology of asthma. *Nat Rev Microbiol*. 2012;10:459–471.
47. Bufford JD, Gern JE. The hygiene hypothesis revisited. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2005;25:247–262.
48. Chu HW, Honour JM, Rawlinson CA, Harbeck RJ, Martin RJ. Hygiene hypothesis of asthma: a murine asthma model with *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Chest*. 2003;123(Suppl):390S.
49. Carr TF, Alkatib R, Kraft M. Microbiome in Mechanisms of Asthma. *Clin Chest Med*. 2019 Mar;40(1):87-96
50. Malo JL, Vandenplas O. Definitions and classification of work- related asthma. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2011;31:645–662.
51. Tan J, Bernstein JA. Occupational asthma: an overview. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2014;431:1–7.
52. Forte GC, da Silva DTR, Hennemann ML, Sarmiento RA, Almeida JC, de Tarso Roth Dalcin P. Diet effects in the asthma treatment: A systematic review. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2018 Jul 24;58(11):1878-1887.
53. Devereux G, Seaton A. Diet as a risk factor for atopy and asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 2005;115:1109-17.
54. Lambrecht BN, Hammad H. The immunology of asthma. *Nat Immunol*. 2015 Jan;16(1):45-56.

55. Anderson GP. Endotyping asthma: new insights into key pathogenic mechanisms in a complex, heterogeneous disease. *Lancet*. 2008 Sep 20;372(9643):1107-19.
56. Brusselle GG, Joos GF, Bracke KR. New insights into the immunology of chronic obstructive pulmonary disease. *Lancet*. 2011 Sep 10;378(9795):1015-26.
57. Karaatmaca B, Şekerel BE. Astım. In: Şekerel BE (ed). *Çocukluk Çağında Alerji Astım İmmunoloji*. İstanbul: Ada Basın Yayın 2015:411-39.
58. Peebles RS Jr, Aronica MA. Proinflammatory Pathways in the Pathogenesis of Asthma. *Clin Chest Med*. 2019 Mar;40(1):29-50.
59. van der Veen MJ, Van Neerven RJ, De Jong EC, Aalberse RC, Jansen HM, van der Zee JS. The late asthmatic response is associated with baseline allergen-specific proliferative responsiveness of peripheral T lymphocytes in vitro and serum interleukin-5. *Clinical and experimental allergy: journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*. 1999;29(2):217–227
60. Minty A, Chalon P, Derocq JM, et al. Interleukin-13 is a new human lymphokine regulating inflammatory and immune responses. *Nature*. 1993;362(6417):248–250
61. Rickel EA, Siegel LA, Yoon BR, et al. Identification of functional roles for both IL-17RB and IL-17RA in mediating IL-25-induced activities. *J Immunol*. 2008;181(6):4299–4310.
62. Barlow JL, Bellosi A, Hardman CS, et al. Innate IL-13-producing nuocytes arise during allergic lung inflammation and contribute to airways hyperreactivity. *J Allergy Clin Immunol*. 2012;129(1):191–198.
63. Stockinger B, Veldhoen M, Martin B. Th17 T cells: Linking innate and adaptive immunity. *Semin Immunol* 2007; 19: 353-61.
64. Choy DF, Hart KM, Borthwick LA, Shikotra A, Nagarkar DR, Siddiqui S, et al. TH2 and TH17 inflammatory pathways are reciprocally regulated in asthma. *Sci Transl Med* 2015; 7: 301ra129.
65. Ramakrishnan RK, Al Heialy S, Hamid Q. Role of IL-17 in asthma pathogenesis and its implications for the clinic. *Expert Rev Respir Med*. 2019 Nov;13(11):1057-1068.
66. Ohkura N, Kitagawa Y, Sakaguchi S. Development and maintenance of regulatory T cells. *Immunity*. 2013 Mar 21;38(3):414-23.
67. Linterman MA, Pierson W, Lee SK, Kallies A, Kawamoto S, Rayner T F, Srivastava M, Divekar DP, Beaton L, Hogan JJ, et al. Foxp3+ follicular

regulatory T cells control the germinal center response. *Nat. Med* 2011;17, 975–982

68. Narayanankutty A, Reséndiz-Hernández JM, Falfán-Valencia R, Teran LM. Biochemical pathogenesis of aspirin exacerbated respiratory disease (AERD). *Clinical Biochemistry* 2013;46: 566–578.
69. Özer F, Yosunkaya Ş. Astım ve lökotrienler. *Genel Tıp Dergisi* 2005;15(2):91-99.
70. Vignola AM, Mirabella F, Costanzo G, Di Giorgi R, Gjomarkaj M, Bellia V, Bonsignore G. Airway remodeling in asthma. *Chest*. 2003 Mar;123(3 Suppl):417S-22S
71. Wenzel SE. Asthma: defining of the persistent adult phenotypes. *Lancet* 2006; 368: 804-13.
72. Schatz M, Rosenwasser L. The allergic asthma phenotype. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2014 Nov-Dec;2(6):645-8; quiz 649.
73. Szczeklik A, Stevenson DD. Aspirin-induced asthma: advances in pathogenesis, diagnosis, and management. *J Allergy Clin Immunol*. 2003 May;111(5):913-21; quiz 922.
74. MacDowell AL, Bacharier LB. Infectious triggers of asthma. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2005 Feb;25(1):45-66.
75. Wright A, Lavoie KL, Jacob A, Rizk A, Bacon SL. Effect of body mass index on self-reported exercise-triggered asthma. *Phys Sportsmed*. 2010 Dec;38(4):61-6.
76. Coumou H, Westerhof GA, de Nijs SB, Amelink M, Bel EH. Diagnosing persistent blood eosinophilia in asthma with single blood eosinophil or exhaled nitric oxide level. *Respir Med*. 2018 Aug;141:81-86.
77. Salter BM, Aw M, Sehmi R. The role of type 2 innate lymphoid cells in eosinophilic asthma. *J Leukoc Biol*. 2019 Oct;106(4):889-901.
78. Dean K, Niven R. Asthma Phenotypes and Endotypes: Implications for Personalised Therapy. *BioDrugs* 2017; 31: 393-408.
79. Nakagome K, Matsushita S, Nagata M. Neutrophilic inflammation in severe asthma. *Int Arch Allergy Immunol*. 2012;158 Suppl 1:96-102.
80. Daines L, McLean S, Buelo A, Lewis S, Sheikh A, Pinnock H. Systematic review of clinical prediction models to support the diagnosis of asthma in primary care. *NPJ Prim Care Respir Med*. 2019 May 9;29(1):19
81. Kavanagh J, Jackson DJ, Kent BD. Over- and under-diagnosis in asthma. *Breathe (Sheff)*. 2019 Mar;15(1):e20-e27

82. Brigham EP, West NE. Diagnosis of asthma: diagnostic testing. *Int Forum Allergy Rhinol*. 2015 Sep;5 Suppl 1:S27-30
83. Pellegrino R, Viegi G, Brusasco V, et al. Interpretive strategies for lung function tests. *Eur Respir J*. 2005;26:948- 968
84. Oğuzülgen K, Türктаş H, Erbaş D. Stabil astımda ekspirasyon havasındaki nitrik oksit düzeyini etkileyen faktörler. *Toraks Dergisi* 2002;3:232-5.
85. Celebioglu E, Demir AU, Karakaya G, Kalyoncu AF. Screening instrument to identify skin prick test-negative patients with asthma and/or rhinitis. *Clin Respir J*. 2019 May;13(5):314-320.
86. Juniper EF, Bousquet J, Abetz L, et al. Identifying ‘well-controlled’ and ‘not well-controlled’ asthma using the Asthma Control Questionnaire. *Respir Med*. 2006; 100: 616-21.
87. Juniper EF, Buist AS, Cox FM, et al. Validation of a standardized version of the Asthma Quality of Life Questionnaire. *Chest* 1999;115(5):1265-70.
88. Juniper EF, Svensson K, Mörk AC, Ståhl E. Measurement properties and interpretation of three shortened versions of the asthma control questionnaire. *Respir Med* 2005; 99: 553-8.
89. Juniper EF, Kline PA, Vanzielegheem MA, Ramsdale EH, O'Byrne PM, Hargreave FE. Effect of long-term treatment with an inhaled corticosteroid (budesonide) on airway hyperresponsiveness and clinical asthma in nonsteroid-dependent asthmatics. *Am Rev Respir Dis*. 1990;142:832–836.
90. Lipworth BJ. Systemic adverse effects of inhaled corticosteroid therapy: a systematic review and meta-analysis. *Arch Int Med* 1999; 159: 941-55.
91. Buhl R. Local oropharyngeal side effects of inhaled corticosteroids in patients with asthma. *Allergy* 2006; 61: 518-26.
92. Kim MH, Rhee CK, Shim JS, Park SY, Yoo KH, Kim BY, et al. Inhaled Corticosteroids in Asthma and the Risk of Pneumonia. *Allergy Asthma Immunol Res*. 2019; 11: 795-805
93. Barnes PJ, Theophylline: New perspectives for an old drug. *Am J Respir Care Med* 2003; 167: 813-8.
94. McGregor MC, Krings JG, Nair P, Castro M. Role of Biologics in Asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019 Feb 15;199(4):433-445.
95. Pepper AN, Renz H, Casale TB, Garn H. Biologic therapy and novel molecular targets of severe asthma. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2017;5:909–916.

96. Cox L, Li JT, Nelson H, Lockey R. Joint Task Force on Practice Parameters. Allergen Immunotherapy: a practice parameter. *J Allergy Clin Immunol* 2007; 120(Suppl 3): 1-85.
97. Hizawa N, Kawaguchi M, Huang SK, et al.: Role of interleukin-17F in chronic inflammatory and allergic lung disease. *Clin Exp Allergy*, 36: 1109-1114, 2006.
98. Kolls JK, Lindén A. Interleukin-17 family members and inflammation. *Immunity*. 2004 Oct;21(4):467-76.
99. Ramsey CD, Lazarus R, Camargo CA Jr, Weiss ST, Celedón JC. Polymorphisms in the interleukin 17F gene (IL17F) and asthma. *Genes Immun*. 2005 May;6(3):236-41.
100. Ren Z, Li M, Liu R, et al. Interleukin 17A rs3819024 A>G polymorphism is associated with an increased risk of gastric cardia adenocarcinoma in a Chinese population. *Biomarkers*. 2014;19:411–16.
101. Aggarwal S, Gurney AL. IL-17: prototype member of an emerging cytokine family. *J Leukoc Biol*. 2002 Jan;71(1):1-8.
102. Yao Z, Painter SL, Fanslow WC, Ulrich D, Macduff BM, Spriggs MK, Armitage RJ. Human IL-17: a novel cytokine derived from T cells. *J Immunol*. 1995 Dec 15;155(12):5483-6.
103. Aggarwal S, Ghilardi N, Xie MH, de Sauvage FJ, Gurney AL (January 2003). "Interleukin-23 promotes a distinct CD4 T cell activation state characterized by the production of interleukin-17". *The Journal of Biological Chemistry*. 278 (3): 1910–4
104. Cho ML, Kang JW, Moon YM, Nam HJ, Jhun JY, Heo SB, et al. (May 2006). "STAT3 and NF-kappaB signal pathway is required for IL-23-mediated IL-17 production in spontaneous arthritis animal model IL-1 receptor antagonist-deficient mice". *Journal of Immunology*. 176 (9): 5652–61.
105. Chen Z, Laurence A, Kanno Y, Pacher-Zavisin M, Zhu BM, Tato C, et al. (May 2006). "Selective regulatory function of Socs3 in the formation of IL-17-secreting T cells". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 103 (21): 8137–42.
106. Veldhoen M, Hocking RJ, Atkins CJ, Locksley RM, Stockinger B (February 2006). "TGFbeta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells". *Immunity*. 24 (2): 179–89.
107. Bettelli E, Carrier Y, Gao W, Korn T, Strom TB, Oukka M, et al. (May 2006). "Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells". *Nature*. 441 (7090): 235–8.

108. The National Center for Biotechnology Information. Gene. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genome/108.10>. May 15, 2021.
109. Johansen C, Usher PA, Kjellerup RB, Lundsgaard D, Iversen L, Kragballe K (February 2009). "Characterization of the interleukin-17 isoforms and receptors in lesional psoriatic skin". *The British Journal of Dermatology*. 160 (2): 319–24
110. Gu C, Wu L, Li X. IL-17 family: cytokines, receptors and signaling. *Cytokine*. 2013 Nov;64(2):477-85.
111. Hymowitz SG, Filvaroff EH, Yin JP, Lee J, Cai L, Risser P, Maruoka M, Mao W, Foster J, Kelley RF, Pan G, Gurney AL, de Vos AM, Starovasnik MA. IL-17s adopt a cystine knot fold: structure and activity of a novel cytokine, IL-17F, and implications for receptor binding. *EMBO J*. 2001 Oct 1;20(19):5332-41.
112. Zhang X, Angkasekwinai P, Dong C, Tang H. Structure and function of interleukin-17 family cytokines. *Protein Cell*. 2011 Jan;2(1):26-40.
113. Moseley TA, Haudenschild DR, Rose L, Reddi AH (April 2003). "Interleukin-17 family and IL-17 receptors". *Cytokine & Growth Factor Reviews*. 14 (2): 155–74.
114. Kawaguchi M, Adachi M, Oda N, Kokubu F, Huang SK (December 2004). "IL-17 cytokine family". *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 114 (6): 1265–73, quiz 1274.
115. Pappu R, Ramirez-Carrozzi V, Sambandam A (September 2011). "The interleukin-17 cytokine family: critical players in host defence and inflammatory diseases". *Immunology*. 134 (1): 8–16
116. Iwakura Y, Ishigame H, Saijo S, et al. Functional specialization of interleukin-17 family members. *Immunity*. 2011;34:149–62.
117. Kawaguchi M, Kokubu F, Fujita J, Huang SK, Hizawa N (December 2009). "Role of interleukin-17F in asthma". *Inflammation & Allergy Drug Targets*. 8 (5): 383–9
118. Eltoweel DA, Hanna KM, Elnady MA, Awad AM, Elkholy YS. Interleukin-17 Gene Expression and Serum Levels in Asthma Degenerative Model. *Egypt J Immunol*. 2018 Jan;25(1):153-159.
119. Gurczynski SJ, Moore BB. IL-17 in the lung: the good, the bad, and the ugly. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2018 Jan 1;314(1):L6-L16
120. Jin Y, Deng Z, Cao C, Li L. IL-17 polymorphisms and asthma risk: a meta-analysis of 11 single nucleotide polymorphisms. *J Asthma*. 2015;52(10):981-8.

121. Du J, Han JC, Zhang YJ, Qi GB, Li HB, Zhang YJ, Cai S. Single-Nucleotide Polymorphisms of IL-17 Gene Are Associated with Asthma Susceptibility in an Asian Population. *Med Sci Monit.* 2016 Mar 8;22:780-7.
122. Nordang GB, Viken MK, Hollis-Moffatt JE, et al. Association analysis of the interleukin 17A gene in Caucasian rheumatoid arthritis patients from Norway and New Zealand. *Rheumatology (Oxford)* 2009;48:367–70.
123. Chen B, Zeng Z, Hou J, et al. Association of interleukin-17F 7488 single nucleotide polymorphism and inflammatory bowel disease in the Chinese population. *Scand J Gastroenterol.* 2009;44:720–26.
124. Niu YM, Yuan H, Zhou Y. Interleukin-17 gene polymorphisms contribute to cancer risk. *Mediators Inflamm.* 2014;2014:128490
125. McGeachy MJ, Cua DJ, Gaffen SL. The IL-17 Family of Cytokines in Health and Disease. *Immunity.* 2019 Apr 16;50(4):892-906
126. Leonardi CL, Kimball AB, Papp KA, Yeilding N, Guzzo C, Wang Y, et al. (May 2008). "Efficacy and safety of ustekinumab, a human interleukin-12/23 monoclonal antibody, in patients with psoriasis: 76-week results from a randomised, double-blind, placebo-controlled trial (PHOENIX 1)". *Lancet.* 371 (9625): 1665–74
127. Busse WW, Holgate S, Kerwin E, Chon Y, Feng J, Lin J, Lin SL. Randomized, double-blind, placebo-controlled study of brodalumab, a human anti-IL-17 receptor monoclonal antibody, in moderate to severe asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013 Dec 1;188(11):1294-302.
128. Shastri BS. SNP alleles in human disease and evolution. *J Hum Genet.* 2002;47(11):561-6
129. Kim S, Misra A. SNP genotyping: Technologies and biomedical applications. *Annu Rev Biomed Eng.* 2007; 9:289-32
130. Shastri BS. SNPs: impact on gene function and phenotype. *Methods Mol Biol.* 2009;578:3-22.
131. National Library of Medicine. Medline Plus. What are single nucleotide polymorphisms(SNPs)?<https://medlineplus.gov/genetics/understanding/genomicresearch/snp/>. 1 Nisan 2021.
132. Shah T, Joshi K. Analysis of FOXO3a Gene Polymorphism Associated with Asthma. *Methods Mol Biol.* 2019;1890:259-266.
133. Haller G, Torgerson DG, Ober C, Thompson EE. Sequencing the IL4 locus in African Americans implicates rare noncoding variants in asthma susceptibility. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;124:1204–1209.e9.

134. Oda N, Canelos PB, Essayan DM, Plunkett BA, Myers AC, Huang SK. Interleukin-17F induces pulmonary neutrophilia and amplifies antigen-induced allergic response. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:12-8.).
135. Kawaguchi M, et al. IL-17F sequence variant (His161Arg) is associated with protection against asthma and antagonizes wild-type IL-17F activity. *J Allergy Clin Immunol*. 2006;117:795–801
136. Wang JY, Shyur SD, Wang WH, Liou YH, Lin CG, Wu YJ, Wu LS. The polymorphisms of interleukin 17A (IL17A) gene and its association with pediatric asthma in Taiwanese population. *Allergy*. 2009 Jul;64(7):1056-60.
137. Maalmi H, Beraies A, Charad R, Ammar J, Hamzaoui K, Hamzaoui A. IL-17A and IL-17F genes variants and susceptibility to childhood asthma in Tunisia. *J Asthma*. 2014 May;51(4):348-54.
138. Bazzi MD, Sultan MA, Al Tassan N, Alanazi M, Al-Amri A, Al-Hajjaj MS, Al-Muhsen S, Alba-Concepcion K, Warsy A. Interleukin 17A and F and asthma in Saudi Arabia: gene polymorphisms and protein levels. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2011;21(7):551-5.
139. Qian F, Zhang Q, Zhou L, Ma G, Jin G, Huang Q, Yin K. Association between polymorphisms in IL17F and male asthma in a Chinese population. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2012;22(4):257-63.
140. Liang T, Xu YT, Zhang Y, Cai PC, Hu LH. Interleukin-17A and -17F single nucleotide polymorphisms associate with susceptibility of asthma in Chinese Han population. *Hum Immunol*. 2018 Oct;79(10):736-742.
141. Zhai C, Li S, Feng W, Shi W, Wang J, Wang Q, Chai L, Zhang Q, Yan X, Li M. Association of interleukin-17A rs2275913 gene polymorphism and asthma risk: a meta-analysis. *Arch Med Sci*. 2018 Oct;14(6):1204-1211.
142. Zhu M, Wang T, Chen R, Wang C, Liu S, Ji Y. Association between interleukin-17a gene polymorphisms and asthma risk: a meta-analysis. *Asian Pac J Allergy Immunol*. 2016 Jun;34(2):115-23.
143. Chen J, Deng Y, Zhao J, Luo Z, Peng W, Yang J, Ren L, Wang L, Fu Z, Yang X, Liu E. The polymorphism of IL-17 G-152A was associated with childhood asthma and bacterial colonization of the hypopharynx in bronchiolitis. *J Clin Immunol*. 2010 Jul;30(4):539-45.