

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**Çocuk Astım Hastalarında Remisyon Döneminde Salınan Sitokin
Alarminleri ve Sitokin Moleküllerinin Nazal Sıvıda ve Serumda
Biyobelirteç Olarak Değerlendirilmesi**

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Doktora Tezi

Mojtaba DOULATPANAHI

İZMİR

2019

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**Çocuk Astım Hastalarında Remisyon Döneminde Salınan Sitokin
Alarminleri ve Sitokin Moleküllerinin Nazal Sıvıda ve Serumda
Biyobelirteç Olarak Değerlendirilmesi**

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Doktora Tezi

Mojtaba DOULATPANAHI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Yasemin AKÇAY

İZMİR

2019

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

Üye : Prof.Dr.Gülgün OKTAY

Doktora Tezinin kabul edildiği tarih: 01.02.2019

ÖNSÖZ

Bu tez projesi ile çocuk astım hastalarının tanı ve tedavisinde önemli bilimsel bulguların literatüre kazandırılması amaçlanmıştır. Doktora eğitimim boyunca tez danışmanın sayın Prof. Dr. Yasemin AKÇAY başta olmak üzere emeği geçen tüm araştırmacı arkadaşlarıma ve Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'ndan bu tez projesinin sonuçlandırılmasına katkıları bulunan tüm çalışanlara teşekkür ederim. Özellikle Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk İmmünolojisi ve Alerji Hastalıkları Bilim Dalı uzman doktorları ve hemşireleri klinik araştırmalarda en çok zorlanan ve deneyim gerektiren çocuk hastalardan araştırma örneği alma konusunda büyük destekte bulunmuş ve deneyimlerinden faydalanmamızı sağlamışlardır. Araştırmamıza başlarken oldukça fazla parametrenin araştırılıp değerlendirilmesi temel husus olarak kabul edilmişti. Sonuçlarımıza baktığımızda bu araştırmanın geliştirilip daha ileri araştırma projelerine temel olması beklenmektedir.

Bu çalışma Ege Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 18 TIP 022 no'lu proje olarak desteklenmiştir.

İzmir

Mojtaba Doulatpanah

08.01.2019

ÖZET

Astım, T-helper hücreleri aracılıklı immun yanıtla karakterize, solunum yolunda gelişen kronik enflamatuvar bir bozukluktur. Günümüzde yaklaşık olarak 235 milyon kişi astım hastasıdır.

Çocuk astım hastalarının zamanında tanısı konulup uygun şekilde tedavi edilmez ise sürekli acil servis poliklinik vizitleri, uyku bozuklukları, oyun ve aile aktivitelerinde kısıtlanma ve sonunda akciğer fonksiyonlarında geri dönüşü olmayan bozuklukların meydana gelmesi kaçınılmazdır.

Astım hastalığı sırasında T lenfositleri, nötrofil, makrofaj ve dendritik hücreler aracılığı ile immun yanıt oluşturulmaktadır. İmmun yanıt sonucu kanda sitokin moleküllerinin düzeyinde artış meydana gelmektedir.

Çocuk hastalarda serum sitokin düzeylerini tespit etmek için kan örneğinin alınması invaziv ve nispeten zor bir yöntem olduğundan anksiyete, güvensizlik hissi ve korkuya yol açabilmektedir.

Kan örneği alınmasına alternatif olarak burundan sürüntü örneğinin alınması non-invaziv ve kolay bir yöntem olduğundan çocuğa travmatik bir zarar vermemektedir.

Bu araştırmada çocuk hastalarda astım tanısı ve takibini kolaylaştırmak için nazal sürüntü örneği içeriğindeki GM-CSF, IL-5, IL-6, IL-13 ve IL-33 sitokinlerinin düzeylerinin belirlenmesi ve hastalığın remisyon döneminde periostin, TSLP, IL-4, IL-12 gibi sitokin alarmin düzeylerinin biyobelirteçlik açısından değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çocuk Astım Hastalarında Remisyon Döneminde Salınan Sitokin Alarminleri ve Sitokin Moleküllerinin Nazal Sıvıda ve Serumda Biyobelirteç Olarak Değerlendirilmesi

Anahtar Kelimeler: çocuk; astım; remisyon; nazal sıvı; serum; Luminex

ABSTRACT

Asthma is a chronic inflammatory disorder that develops in the respiratory tract, characterized by T helper cells mediated immune response. Approximately 235 million people have asthma today.

If the disease is not well controlled by the appropriate treatment, children with asthma have continuous emergency department visit, sleep disorders, restriction of activities in the game and family, irreversible disorders in lung function and require early diagnosis and treatment.

During asthma disease, T lymphocytes, neutrophils, macrophages and dendritic cells produce immune responses. The immune response results in an increase in the level of cytokine molecules in the blood.

Since blood sampling in pediatric patients is an invasive method for detecting cytokine serum levels, it is difficult and causes anxiety, fear, and psychological trauma.

As an alternative to blood sampling, nasal swab specimen taken from the nose is non-invasive. It is therefore easy and does not cause a traumatic problem to patients as in the blood collection process.

The aim of this study was to facilitate the diagnosis and following of asthma in children by investigating the levels of the cytokines GM-CSF, IL-5, IL-6, IL-13 and IL-33, and cytokine alarmins such as periostin, TSLP, IL-4, IL-12 in remission period and to evaluate it's biomarker characteristics.

Biomarker Evaluation of Cytokine Alarmins and Cytokine Molecules Released During Exacerbation (Acute) and Remission Periods in Nasal Fluid of Pediatric Asthmatic Patients

Keywords: child; asthma; remission; nasal fluid, serum; Luminex.

İçindekiler

ÖZET.....	I
ABSTRACT	II
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Astım Tanımı ve Patogenezi	2
2.2. Çocuk Astımı.....	3
2.3. Astımda Akut/Erken Faz Cevabı.....	4
2.3.1. Akut/Erken Faz Astımda Etkin Hücreler.....	4
2.3.1.1. Mast Hücreleri.....	4
2.3.1.2. Bazofiller	4
2.3.1.3. Kalıtsal Lenfoid Hücreler	4
2.3.2. Akut İnflamasyon Medyatorları	4
2.3.2.1. Epitelyal Hücreler Tarafından Üretilen Medyatorlar	5
2.3.3. Kronik/Geç Faz Astımda Etkin Hücreler	6
2.3.3.1. İmmun Hücreler	6
2.3.4. Kronik/Geç Faz Astımda Medyatorlar	7
3. GEREÇ VE YÖNTEM	11
3.1. Gereç.....	11
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Gereçler ve Kimyasallar	11
3.2. Yöntem	12
3.2.1 Örneklerin Toplanması, Saklanması, Transferi	12
3.2.2 Protein Konsantrasyonu Analizi.....	14
3.2.3. Manyetik Luminex® Testi	14
3.2.4. Etik Kurul Onay Belgesi.....	15
4. BULGULAR.....	16
4.1. Remisyon Dönemi Astım Hastası Çocuklar ile Sağlıklı Kontrol Grubu Çocukların Demografik Özelliklerinin Karşılaştırılması	16
4.2. Remisyon Dönemi Astım Hastası Çocuklar ile Kontrol Grubu Sağlıklı Çocukların Bazı Laboratuvar Bulgularının Karşılaştırılması.....	16

4.3. Remisyon Grubu Astım Hastası Çocuklar ile Sağlıklı Kontrol Grubu Çocuklarda İnflamatuvar Mediatorlerin Karşılaştırılması	18
4.4. Remisyon Dönemindeki Astım Hastası Çocuklarda Serum ve Nazal Sıvıdaki Sitokin Düzeylerinin Korelasyonu	24
5. TARTIŞMA	31
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	39
7. KAYNAKLAR	40
8. ETİK KURUL ONAY BELGESİ.....	58
9. TEŞEKKÜR	60
10. ÖZGEÇMİŞ.....	61



Grafikler Dizini

Grafik 4.1. Remisyon dönemi astım hastası grubu çocuklar ile sağlıklı kontrol grubu çocukların serumlarında ölçülen ortalama IgG düzeyleri arasındaki fark ($p=0,05$).....	19
Grafik 4.2. Remisyon dönemi astım hastası grubu çocuklar ile sağlıklı kontrol grubu çocukların serumlarında ölçülen ortalama IL-6 sitokini düzeyleri arasındaki fark ($p=0,05$).....	20
Grafik 4.3. Remisyon dönemi astım hastası grubu çocuklar ile sağlıklı kontrol grubu çocukların serumlarında ölçülen ortalama IL-13 sitokini düzeyleri arasındaki fark ($p<0,05$).....	20
Grafik 4.4. Remisyon dönemi astım hastası grubu çocuklar ile sağlıklı kontrol grubu çocukların serumlarında ölçülen ortalama TSLP sitokini düzeyleri arasındaki fark ($p<0,05$).....	21
Grafik 4.5. Remisyon dönemi astım hastası grubu çocuklar ile sağlıklı kontrol grubu çocukların serumlarında ölçülen ortalama IL-5 sitokini düzeyleri arasındaki fark ($p<0,05$).....	21
Grafik 4.6. Remisyon dönemi astım hastası grubu çocuklar ile sağlıklı kontrol grubu çocukların serumlarında ölçülen ortalama IL-12p70 sitokini düzeyleri arasındaki fark ($p<0,05$).....	22
Grafik 4.7. Remisyon dönemi astım hastası grubu çocuklar ile sağlıklı kontrol grubu çocukların nazal sıvılarında ölçülen ortalama IL-6 sitokini düzeyleri arasındaki fark ($p<0,05$).....	22
Grafik 4.8. Remisyon dönemi astım hastası grubu çocuklar ile sağlıklı kontrol grubu çocukların nazal sıvılarında ölçülen ortalama IL-33 sitokini düzeyleri arasındaki fark ($p<0,001$).....	23
Grafik 4.9. Remisyon dönemi astım hastası grubu çocuklar ile sağlıklı kontrol grubu çocukların nazal sıvılarında ölçülen ortalama IL-5 sitokini düzeyleri arasındaki fark ($p<0,05$).....	23
Grafik 4.10. Remisyon dönemi astım hastası grubu çocuklar ile sağlıklı kontrol grubu çocukların nazal sıvılarında ölçülen ortalama periostin sitokini düzeyleri arasındaki fark ($p<0,001$).....	24

Tablolar Dizini

Tablo 3.1. Tez projesi kapsamında kullanılan gereçlerin adları, marka ve modelleri.....	11
Tablo 3.2. Tez projesi kapsamında kullanılan kimyasalların adları, marka ve özellikleri.....	11
Tablo 4.1. Remisyon dönemi astım hastası çocuklar ile sağlıklı kontrol grubu çocukların demografik özelliklerinin karşılaştırılması	16
Tablo 4.2. Remisyon dönemi astım hastası çocuklar ile sağlıklı kontrol grubu çocukların bazı laboratuvar bulgularının karşılaştırılması.....	17
Tablo 4.3. Remisyon dönemi astım hastası çocuklar ile sağlıklı kontrol grubu çocuklar arasında araştırılan parametreler açısından oluşan farkların karşılaştırılması.....	18
Tablo 4.4. Hasta grubunda serum IgA konsantrasyonu ile nazal sıvı ve serumda korelasyonu bulunan sitokinler	24
Tablo 4.5. Hasta grubunda serum IL-6 konsantrasyonu ile nazal sıvı ve serumda korelasyonu bulunan sitokinler	25
Tablo 4.6. Hasta grubunda serum IL-33 konsantrasyonu ile nazal sıvı ve serumda korelasyonu bulunan sitokinler	25
Tablo 4.9. Hasta grubunda serum IL-13 konsantrasyonu ile nazal sıvı ve serumda korelasyonu bulunan sitokinler	27
Tablo 4.10. Hasta grubunda serum TSLP konsantrasyonu ile nazal sıvı ve serumda korelasyonu bulunan sitokinler	28
Tablo 4.11. Hasta grubunda serum IL-5 konsantrasyonu ile nazal sıvı ve serumda korelasyonu bulunan sitokinler	29
Tablo 4.12. Hasta grubunda serum periostin konsantrasyonu ile nazal sıvıda korelasyonu bulunan sitokinler	29
Tablo 4.13. Hasta grubunda serum IL-12p70 konsantrasyonu ile nazal sıvı ve serumda korelasyonu bulunan sitokinler	30

Şekiller Dizini

Şekil 3.1. Nazal sıvı toplamak için kullanılan tüp düzeneği	12
Şekil 3.2. Toplanan örneklerin santrifüjünde kullanılan santrifüj cihazı	13
Şekil 3.3. Kan alımında kullanılan EDTA'lı tüpün görünümü.....	13
Şekil 3.4. Luminex analizinin çalışma prensibini gösteren şema.....	15



Kısaltmalar Listesi:

Ig: immunoglobulin

Th2: T helper 2

IL: İnterlökin

KLH: Kalıtsal Lenfoid Hücreler

BAFF: B hücresi aktive edici faktör

İKS: İn hale kortikosteroidler

KLH: Kalıtsal Lenfoid Hücreler

TSLP: Timik stromal lenfopoetin

NK: Natural killer

Thf: Foliküler Th

TGF- β : Transforming Growth Factor

BSA: Bovin serum albümini

LED: Işık yayan diyet

PE: Fikoeritrin konjugatı

SİT: Spesifik immünolojik terapi

TXA2: Tromboksan A2

PGF2 α : Prostaglandin F2 alfa

PGD2: Prostaglandin D2

PGI2: Prostatiklin

MHK: Majör histokompatibilite kompleksi

GM-CSF: Granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör

1. GİRİŞ

Astım, alt hava yollarını etkileyen prevalansı oldukça yüksek bir hastalıktır. Astım, çoğu hastada inhale kortikosteroidler (İKS) ile kontrol altına alınabilmektedir. Yine de astım hastalarının %10'unda bu tedaviler uygulanmasına rağmen semptomlar devam etmektedir. Bu tip hastalar astım atakları ve astım alevlenmesi açısından yüksek risk taşımaktadır (Wenzel et al. 2000). Bu grup astımlı hastalarda yüksek sağlık maliyetleri ve en önemlisi yüksek morbidite ortaya çıkmaktadır (Wenzel et al. 2000), (Barnes 2012), (Fajt and Wenzel 2015). Kronik bir solunum yolu hastalığı olan astımın semptomları nefes darlığı, öksürük ve solunum yolu hava akışında kısıtlanmadır (Global Initiative For Asthma (GINA) 2017). Astım dünya çapında en az 300 milyon insanı etkilediği için hem sağlık açısından hem de sosyal açıdan çok önemli bir problemdir. İKS astımın kontrol altına alınmasında yetersiz kaldığı zaman β -agonistler veya oral kortikosteroidler kullanılmaktadır. Bu alternatif uygulamalar, toplam astım tedavi masraflarının yaklaşık yarısını oluşturmaktadır (Adcock and Lane 2003), (Hekking et al. 2015).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Astım Tanımı ve Patogenezi

Astım kronik ve inflamatuvar bir hastalıktır. Akciğerin alt hava yollarını etkileyen bu hastalığın gelişiminde birçok hücre rol oynamaktadır (Douwes et al. 2002), (King 1999). Kronik hava yolu inflamasyonu sonucu hava yollarında daralma ve hava akımı kısıtlılığı gibi fizyopatolojik değişiklikler meydana gelmektedir (Global Initiative For Asthma (GINA) 2017). Hava yolu obstrüksiyonu ile karakterize olan astım hastalığının atakları kendiliğinden geri dönüşlü de olabilir de, sıklıkla tedavi gerektirmektedir (Elias et al. 2003).

Astım gelişiminde genetik faktörler yanı sıra birtakım çevresel faktörler de etkilidir (Busse and Lemanske Jr 2001). Astım gelişiminde genetik faktörlerin büyük önemi bulunmaktadır (Ober 2005), her iki ebeveynde astım bulunan çocukların, tek bir ebeveynde astım bulunanlara göre daha yüksek oranda astım tanısı aldıkları saptanmıştır (Holgate 1999). Beden kitle indeksinin arttığı çocuk ve erişkin bireylerde astım semptomlarında artış gözlenmektedir (Schachter et al. 2001), (Akerman, Calacanis, and Madsen 2004). Çocukluk çağında erkeklerde kızlara göre astım daha yüksek oranda iken erişkin bireylerde daha çok kadınlarda görülmektedir (Global Initiative For Asthma (GINA) 2017), (Ober 2005). Astım gelişiminde alerjenlerin alevlenmeye sebep oldukları bilinmekle birlikte oynadıkları rol tam olarak netleştirilememiştir (Global Initiative For Asthma (GINA) 2017). Sigara kullanımı veya pasif sigara içicisi olunması astım belirtilerinin ağırlaşmasına neden olmaktadır (Global Initiative For Asthma (GINA) 2017).

Astım patogenezinde immunoglobulin E (IgE) ile önemli bir bağlantı bulunmaktadır. IgE'ye bağlı yol alerjik astım ile ilişkilirken, alerjik olmayan astım bu yola bağlı değildir (Platts-Mills 2001). Alerjenle tekrar karşılaşıldığında çapraz reaksiyon sonucu histamin, prostoglandin, lökotrien, sitokin ve kemokin medyatörlerinin salınımı gerçekleşmektedir (Ishmael 2011), (Bharadwaj, Bewtra, and Agrawal 2007). Bu inflamatuvar hücreler eozinofiller, makrofajlar, nötrofiller ve T lenfositlerdir (Agrawal and Shao 2010). Aktifleşen lökositlerden salınan ürünler hava yolunda alerjene karşı oluşan yüksek immünolojik yanıtın temelini oluşturmaktadır. Bu ürünler epitelyal tabakanın bozulmasına, hava yolu yapısının değişmesine, bronkokonstriksiyonun gelişimine ve ekstrasellüler matriksin dekompozisyonuna

neden olmaktadır (Ishmael 2011), (Agrawal and Shao 2010). T helper 2 (Th2) hücrelerinin seçici olarak yayılımı, IL (interlökin)-4, IL-5, IL-13 sitokinlerinin salınmasına neden olmaktadır. IL-4 ve IL-13, hava yolunda oluşan yüksek duyarlılığı ve goblet hücrelerinin metaplazisini, IL-5 hava yolu eozinofilisini meydana getirmektedir (McGee and Agrawal 2006). Hava yolunda zamanla meydana gelen kalıcı değişiklikler, goblet hücresi hiperplazisi, sub-epitelyal fibrozis ve hava yolu düz kasında artan kolajen depozisyonu ile sonuçlanmaktadır (Blume and Davies 2013).

2.2. Çocuk Astımı

2011 yılı itibari ile astımla ilgili yapılan araştırmalar, astım yükünü azaltmak üzere erken müdahaleye yönelik stratejilerin geliştirilmesi ve kişiselleştirilmiş astım tedavisi üzerine yoğunlaşmıştır (Szeffler 2012).

Uzun süre etkili olan Beta-adrenerjik agonistler ve inhale kortikosteroid kombinasyonları ve inhale kortikosteroidlerin kullanımı astım alevlenmelerinin riskini azaltmaktadır. Bu tedavi astım kontrolünün sağlanmasında yararlı bir etkiye sahiptir (O'Byrne 2011). Ayrıca, lökotrien reseptör antagonistleri, omalizumab, balgam eozinofil ayarlı tedavi ve balgam eozinofilili hastalarda anti-IL-5, astım alevlenme riskini azaltmak için de kullanılabilir (O'Byrne 2011).

Genel astım bakımının daha iyi organizasyonu, büyük sağlık bakım sistemlerinde astım sonuçlarını iyileştirmek için kullanılabilir (Schatz and Zeiger 2011). Genetik keşiflerdeki ilerlemeler, astım riski taşıyan ve belirli astım fenotiplerinin gelişebileceği hastaları belirlemede yardımcı olacaktır (Cookson, Moffatt, and Strachan 2011), (I. V. Yang and Schwartz 2011). Bu tür araçların bulunması, astım tedavisine proaktif önleyici yaklaşım getirmelidir (Szeffler 2013).

Hastalık aktivitesini değerlendirilmeyi geliştirmek için klinik öykü, spirometri ve biyolojik belirteçlerin ölçülmesi yararlı olacaktır.

Jia ve ark., periostinin astımlı hastalarda hava yolu eozinofilisi için sistemik bir biyobelirteç olduğunu ve Th2 inflamasyonunu hedefleyen yeni astım tedavileri için hasta seçiminde potansiyel faydası olduğunu bildirmişlerdir (Jia et al. 2012). Nair ve Kraft, basit bir kan testinin ideal ve klinik olarak çok yararlı olacağını söylemektedir

(Nair and Kraft 2012). Periostin, özellikle şiddetli astımı olan hastalarda bazı umutlar uyandırmaktadır, ancak daha fazla değerlendirilmelidir (Szeffler 2013).

IgE fetal dönemin 11. haftasında üretilmeye başlamaktadır. IgE aracılığıyla oluşan duyarlılık postnatal dönemde oluşmakla birlikte standart tekniklerle spesifik IgE antikorlarını kordon kanında tespit etmek mümkün olmamaktadır (Grabenherrich et al. 2014), (Gough et al. 2015), (Wahn et al. 1997). En yüksek prevalans ergenlik döneminde meydana gelmektedir. Spesifik IgE yanıtı bölgesel maruziyetle ilişkilendirilmektedir (Lau et al. 2000), (Posa et al. 2017).

2.3. Astımda Akut/Erken Faz Cevabı

Akut veya erken faz cevabı bronkospazm ile karakterizedir. Bu cevap epitelyumda yerleşmiş mast hücreleri aracılığıyla gelişmektedir.

2.3.1. Akut/Erken Faz Astımda Etkin Hücreler

2.3.1.1. Mast Hücreleri

Mast hücreleri hızla gelişen alerjik reaksiyonlar ve inflamatuvar hücreler ile düz kas üzerine etki eden histamin, prostoglandin, kemokin, sitokin ve lökotrienlerin salınımında kilit rol oynamaktadır (Amin 2012).

2.3.1.2. Bazofiller

Bazofiller mast hücrelerine de benzeyen birçok biçime sahiptir. Bazofiller IgE ile çoklu bağlar kurmaktadır. Bu bağlanma hücrelerin içindeki granüler yapıların ekzositozuna olanak tanımaktadır (Stone, Prussin, and Metcalfe 2010).

2.3.1.3. Kalıtsal Lenfoid Hücreler

Kalıtsal Lenfoid Hücreler (KLH), astım patogeneğinde henüz göze çarpmaya başlamış medyatörlerdendir. Bu hücreler kalıtsal olarak ani sitokin bağımlı immünite, dokuların tamiri ve yeniden biçimlenmesinde rol oynamaktadır (Spits et al. 2013).

2.3.2. Akut İnflamasyon Medyatörleri

IgE alerjik inflamasyonlarla ilişkilidir ve bu medyatörler birçok araştırmanın ve derlemenin konusunu oluşturmaktadır. B-hücrelerinin oldukça küçük bir miktarının plazma hücrelerine dönüştüğü ve IgE'lerin reseptörlerine sıkıca bağlandığı dokulara

hızlı emilimleri nedeniyle bu seviye düşük kalmaktadır (Burton and Oettgen 2011). Bu moleküler seviyede bir rekombinasyon işlemidir. Bu işlem alerjen ile önceden aktifleşerek antijen sunan T-lenfosit etkileşimi (CD40:CD40L etkileşimi) ile gerçekleşmektedir (Galli and Tsai 2012), (Davies and O’Hehir 2008). İki çeşit IgE reseptörü bulunmaktadır. FcεRI, yoğunlukla mast hücreleri ve bazofillerde bulunan yüksek afiniteli reseptördür, FcεRII, yoğunlukla B-hücreleri, T-hücreleri, dendritik hücreler ve hematopoetik hücrelerde bulunan daha düşük afiniteli reseptördür (Stone, Prussin, and Metcalfe 2010).

B hücresi aktive edici faktör (BAFF), TNF ailesi üyesidir. Olgunlaşmış B-lenfositlerinin üretimi ve tamirinde görev almaktadır (Mackay and Browning 2002). BAFF’ın astımdaki rolü hala daha belirlenme sürecindedir. Proinflamatuvar etki yarattığına dair kanıtlar bulunmaktadır (Vincent et al. 2013). Bu etki, lenfositlerin, nötrofillerin ve eozinofillerin toplam sayısı ile ilişki göstermektedir (A. Kato et al. 2009).

2.3.2.1. Epitelyal Hücreler Tarafından Üretilen Medyatörler

Timik stromal lenfopoetin (TSLP) epitelyal hücreler tarafından en çok akciğerlerde ve deride üretilmektedir (Ziegler 2012). TSLP’nin önceleri bir lenfosit büyüme faktörü olduğu düşünülmüş, daha sonraları dendritik hücreler, mast hücreleri, eozinofiller ve hava yolu düz kas hücreleri üzerinde etkilerinin olduğu ortaya çıkarılmıştır (West, Kashyap, and Leonard 2012).

Sülfaktan proteinler mast hücrelerinden medyatörlerin salınmasını ve çapraz bağlanma yanıtını engelleyerek alerjene karşı koruyucu bir mekanizma geliştirmektedir (Ledford et al. 2012).

Aktivin-A, TNF-β ailesine ait bir moleküldür, doku onarımı ve gelişiminde rolü vardır. Bu sitokin immun yanıtın şartları ve mikroçevre koşullarının gösterdiği değişkenliklere göre immun yanıt üzerinde baskılayıcı veya artırıcı yönde görevler üstlenebilmektedir (Kariyawasam et al. 2011).

2.3.3. Kronik/Geç Faz Astımda Etkin Hücreler

2.3.3.1. İmmun Hücreler

Eozinofiller, astım ve diğer alerjik yanıtlarla ilişkilidir ve eozinofillerin akciğerlerde birikmesi bir astım karakteristiği olarak nitelendirilmektedir (Deckers, Branco Madeira, and Hammad 2013). Eozinofiller öncelikli olarak IL-5 etkisinde gelişmekte ve farklılaşmaktadır ve dolaşıma geçerek inflamasyon veya infeksiyon trafiğine katılmaktadır (Stone, Prussin, and Metcalfe 2010).

Nötrofiller, alerjen maruziyeti ve alerjen kaynaklı hasar bölgelerine toplanan öncelikli infalamatuvar hücrelerden biridir. Nötrofillerin bu bölgelerde toplanması, IL-8, CXCL5, CCL3, LTB4 ve granülosit-makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) tarafından gerçekleştirilmektedir (Monteseirín 2009).

Dendritik hücreler, havayolu epitelyumunda yer almaktadır ve akciğerlerin maruz kaldığı alerjenleri örneklemek üzere tarama işlemi yapmaktadır. Dendritik hücre yanıtı sıklıkla koruyucu özellikteki Th1 yanıtıdır, ama alerjik bireylerde Th2 egemen yanıt gelişmektedir (Gaurav and Agrawal 2013).

Th2 hücrelerinin diğer alt kümeleri:

Th17 hücreleri: Bu alt küme hücreleri IL-17 üretmektedir. Bu hücrelerin altkümelerden birini teşkil ettiği anlaşıncaya kadar CD4+ bellek hücreleri olduğu düşünülmüştür. IL-23 ve IL-17 nötrofil hava yolu inflamasyonunu indüklemekte ve AHR'yi desteklemektedir (Wakashin et al. 2008).

Th9 ve Th22 hücreleri: Th9 hücreleri TGF- β , IL-4 varlığında, Th0 hücrelerinden gelişmek için STAT6, IRF4, GATA3 ve PU1 transkripsiyon faktörlerini gerektirmektedir. Th22 hücreleri, IL-13, IL-26, IL-22 (en önemlisi) üretebilmektedir. Keratinositlerin üzerinde bulunan IL-22 reseptörleri ile bu hücreler mukozal immünitede önemli rol oynamaktadır (Lloyd 2010).

NKT ve $\gamma\delta$ T hücreleri astım patogenezinin katıldıkları henüz anlaşılmış hücre tipleridir. NKT grubu T hücreleri doğal katil- natural killer (NK) olarak nitelendirilen hücrelerle birtakım benzerlikler göstermektedir. Bu hücreler CD1d gibi klasik olmayan MHC hücreleri tarafından sunulan peptid yapısında olmayan antijenlere cevap vermekte, bu şekilde hem Th1 (IFN- γ) hem Th2 (IL-4) sitokinlerinin üretimi

gerçekleştirilmektedir (Robinson 2010). Bu hücrelerin akciğer homeostazında önemli bir rol oynadıkları düşünülmektedir (Amin 2012).

2.3.4. Kronik/Geç Faz Astımda Medyatörler

Th2 Sitokinleri:

IL-4: IL-4'ün alerjik astım gelişimine katkıda bulunduğu 1990'lı yıllarda keşfedilmiştir ve alerjik yanıtların patogeneğinde bulunan ana sitokin olarak nitelendirilmektedir. IL-4 alerjik reaksiyon sonucunda hava yolunda meydana gelen değişikliklerde mukus üreten hücreleri ve fibroblastları uyarak, B-hücrelerinin izotiplerine dönüşmesini ve IgE üretmesini indükleyerek, hava yolunda lökositlerin göçünü sağlayan adhezyon moleküllerinin düzenlenmesini sağlayarak fonksiyon göstermektedir (Steinke and Borish 2001).

IL-5: IL-5 işlenmiş eozinofil prekürsörlerinin terminal farklılaşmasını, aktivasyonunu ve hayatta kalmasını sağlayan en önemli sitokindir. IL-5'in eozinofil gelişimindeki rolü gen düzeyindeki araştırmalar ile kanıtlanmıştır (Mullane 2011). IL-5 bulunmadığı durumlarda akciğerlerde eozinofil infiltrasyonunun gerçekleşmediği bildirilmiştir (Shimizu et al. 2013). IL-5 geç faz astım cevabında astım patogeneğine katkıda bulunmaktadır. İnsan araştırmalarında görüldüğü üzere IL-5, eozinofilleri hedef alarak eozinofil sağkalımını uzatmakta, eozinofillerin efektör fonksiyonlarını iyileştirmektedir (Takatsu, Kouro, and Nagai 2009), (Greenfeder et al. 2001).

IL-13: IL-13, kısmi olarak reseptörlerinin yapısından dolayı IL-4 ile benzer biyolojik özelliklere ve aktivitelere sahiptir. IL-13 IL-4 reseptörünün alfa zincirine bağlanmaktadır (Kips 2001). IL-13'ün fonksiyonları in vivo deney hayvanı araştırmaları, insan biyopsi çalışmaları ve insan hücre kültürü araştırmaları kullanılarak kanıtlanmıştır. Deney hayvanı araştırmalarında IL-13 defekti gelişen farelerde alerjenle karşılaşıldığında AHR gelişimi veya önemli mukus değişiklikleri IL-4 ve IL-5 ekspresyonu ile ilişkilendirilmiştir. IL-13 rekombinasyonu karakteristik patolojinin oluşumuna neden olmuştur (McGee and Agrawal 2006), (Walter et al. 2001). Bu gözlemler IL-4 ve IL-13'ün rolleri ile ilgili devam eden tartışmaların açıklığa kavuşması için yardımcı olmaktadır. IL-13 hastalığın ana fizyolojik sonuçlarının oluşumuna katkıda bulunurken, IL-4 Th2 yanıtının oluşmasında görev

almaktadır (Wills-Karp 2004). IL-13 aynı zamanda adezyon moleküllerinin migrasyonu ve yüksek düzenlenmesi, goblet hücresi hiperplazisi ve hava yolu hiperreaktivitesi gibi astımın patolojik özelliklerini göstermektedir (Brightling, Saha, and Hollins 2010).

İnsan Astımında Th2 sitokinleri:

Astım hastası bireylerde hava yollarında Th2 sitokinlerinin hepsinin yüksek düzeyde bulunduğu gösterilmiştir. Bronş biyopsileri ve balgamda IL-4, IL-5, IL-13 ve bunların reseptörlerine ait mRNA ve protein ekspresyon düzeylerinde artış gösterilmektedir (Mullane 2011). Alerjik astımda IL-4 ve IL-13'ün hava yolu inflamasyonuna katkıda bulunarak hava yolu epitelyal bariyerini engellediği bulunmuştur (Saatian et al. 2013).

IL-17: IL-17 epitelyal, endotelyal, hematopoetik hücreler üzerine etki ederek pro-inflamatuvar sitokinlerin ekspresyonuna neden olmaktadır (Tan and Rosenthal 2013). IL-17'nin nötrofillerin toplanmasıyla inflamasyonu sağladığı ayrıca hem hayvan hem de insan biyopsilerinde IL-17'nin nötralizasyonunun pulmoner nötrofiliyi azalttığı gösterilmiştir (Fogli et al. 2013). Astım hastalarında geç faz cevabında Th17 ve IL-17'nin goblet hücresi hiperplazisine ve beraberinde mukus artışına sebep olduğu gösterilmiştir (Bajoriuniene et al. 2013). Astım hastalarında Th17 ve IL-17'nin periferik kandaki düzeylerinin sağlıklı kontrollere göre daha yüksek düzeyde bulunduğu çeşitli araştırmalar tarafından desteklenmektedir (K. Li et al. 2013).

IL-9: IL-9'un birçok hücre üzerinde etkisi bulunmakla birlikte, özellikle mast hücreleri üzerinde etkilerini göstermektedir. IL-9 aynı zamanda B-hücre gelişimi ve fonksiyonunda rol oynamaktadır. IL-4 aracılıklı IgE'yi artırmakta ve B-hücrelerinde IgG'yi yükseltmektedir (Fawaz et al. 2007). Astım hastalarında bronkoalveolar lavaj sıvısında IL-9 mRNA'sında artış bulunmuş ve astım inflamasyonunda IL-9 seviyesi artmaktadır (Erpenbeck et al. 2003). Astım hastalarında IL-9'un spesifik rolü tam anlaşılamamakla birlikte Th9 hücreleri tarafından üretilip üretilmediği de tartışma konusudur (Hall and Agrawal 2014).

IL-22: IL-22'nin hem pro-enflamatuvar hem de anti-enflamatuvar bir rol oynadığı düşünülmektedir. İnsan hücrelerinde yapılan in vitro araştırmalarda IL-22 salınımının IFN- γ tarafından inhibe edildiği gösterilmiştir, bu durum T-hücre sitotoksitesinin

ve pro-enflamatuvar kemokinlerin (RANTES ve CCL10) azalmasına neden olmaktadır (Pennino et al. 2013). Ancak başka bir araştırma sağlıklı kontrollerle astım hastalarında salgılanan IL-22 seviyeleri arasında anlamlı bir fark olmadığını göstermiştir (Nadi et al. 2014).

IL-21: IL-21 özellikle foliküler Th (Thf), Th17 başta olmak üzere CD4 ile aktiflenmiş Th hücreleri tarafından üretilmektedir ve B ve T-hücresi çoğalması ve Nk hücre aktivasyonu ve yayılmasının düzenlenmesinde yardımcı uyaran olduğu bulunmuştur. Normal humoral cevaplar ile birlikte T-hücre çoğalması ve farklılaşmasını düzenlemektedir (Sivakumar, Foster, and Clegg 2004). IL-21 lenfositlerin yaşamda kalmasını ve yayılmasını sağlayarak enflamasyonu sürdürmektedir. IL-21'in Foxp3 regülatör hücrelerinin ve IL-10 üreten B ve Treg hücrelerinin indüklenmesini inhibe etmektedir (S. M. Liu and King 2013). Allerjik astımda yapılan IL-21 araştırmaları genellikle fare çalışmaları ile kısıtlı kalmakla birlikte insan astımı patogenezinin üzerine IL-21'in rolünün araştırılmasına ihtiyaç bulunmaktadır (Hall and Agrawal 2014).

IL-33: Pro-enflamatuvar uyarımı takiben birçok hücre tipi IL-33 eksprese etmektedir. IL-1RAP'ın TIR bölgesi sinyali ile desteklenen heterodimerik reseptörü (ST2 ve IL-1R yardımcı proteinleri) ile bağlanmaktadır ve NF κ B, p38 ve JNK'yi de içeren çeşitli sinyal proteinlerini aktive etmektedir (Lloyd 2010).

Mast hücrelerinde IL-33 sekresyonu analizleri kemik iliği kökenli mast hücrelerinin IL-33 üretimi ve sunumunu sağlayabilme açısından endojen bir kaynak olduğu öne sürülmektedir. Mast hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde IL-33 önemli bir oynamaktadır (Tung et al. 2013).

IL-33'ün goblet hücrelerinden IL-8'in apikal salınımını uyardığı ve bu şekilde goblet hücresi hiperplazisi ve hava yolu enflamasyonunu artışı uyardığı gösterilmiştir. ST2 antikoru ile nötralizasyon bu cevabı hafifletmektedir (Tanabe et al. 2014). Hava yolu düz kas hücrelerinde, yüksek IL-33 ekspresyonu ile şiddetli astım arasında güçlü bir ilişki bulunduğu astım hastalarından alınan endobronkiyal biyopsi araştırmalarında meydana çıkmıştır (Lloyd 2010). IL-33 ile ilgili araştırmalardan elde edilen veriler astım patogenezinde rolü bulunduğunu desteklemektedir (Hall and Agrawal 2014).

TGF- β : Transforming Growth Factor- (dönüştürücü büyüme faktörü)- β (TGF- β) çok fonksiyonlu bir sitokindir. TGF- β 1, TGF- β 2 ve TGF- β 3 olmak üzere 3 farklı formu bulunmakla birlikte farklı hücreler üzerine etkilere sahiptir (Makinde, Murphy, and Agrawal 2007). Pro-enflamatuvar bir sitokin olarak nitelendirilmektedir. Öncelikli etkileri yapısal hücreler üzerine olmakla birlikte inflamatuvar yanıtın genişlemesini desteklemektedir (Y. C. Yang et al. 2012). TGF- β astım hastalarında hava yolu düz kas hücrelerinin proliferasyonu ile ilişkilidir. Kontrol grupları ile kıyaslandığında bu sitokinin hem hafif hem de şiddetli astım hastalarında ekspresyonunun yüksek olduğu görülmüştür (Bossé, Stankova, and Rola-Pleszczynski 2010). Astım hastalarının bronkoalveolar lavaj sıvılarında TGF- β düzeyinin yüksek olduğu ve beraberinde makrofaj ve eozinofil infiltrasyonunda artış olduğu bulunmuştur (Y. C. Yang et al. 2012). İnsan astım hastalarından daha önce deney hayvanı modellerinde yapılacak araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır (Hall and Agrawal 2014).

Kemokinler: Kemokinler hava yolu enflamasyonu başlatma ve gerçekleştirme etkileri ile astım patogeneğinde hava yolu yeniden yapılanmasına katkıda bulunmaktadır (Bloemen et al. 2007). Kemokinlerin rolü kemotaktik sinyallerin oluşturulması adhezyon moleküllerinin aktivasyonu (özellikle integrinler) şeklinde açığa çıkmaktadır; böylece adezyon, lökositlerin diapedezi ve hücrelerin ihtiyaç duyuldukları yere yönlendirilmesi sağlanmaktadır (Greenfeder et al. 2001). Yine immün hücrelerin periferik dokulara düzenlenmemiş bir şekilde toplanması kronik hastalıklara ve geri dönüşü olmayan doku hasarına neden olmaktadır (Smit and Lukacs 2006).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Gereçler ve Kimyasallar

Tablo 3.1. Tez projesi kapsamında kullanılan gereçlerin adları, marka ve modelleri.

Gereç		Marka-Model
Otomatik Pipetler	100-100 µl	Brand
	10-100 µl	Gilson
	1-5 ml	Lab Mate
Buzdolabı (+4 °C)		Arçelik
Derin dondurucu (-20 °C)		Arçelik
Analitik Terazî		Scaltec SBC31
Santrifüj		Nuve
Vorteks		IKA MSI Minishaker
Etüv		Memmert
Ultrasonik Banyo		Georg Pauldrach-Endosonic Med
Kan tüpleri		Vacuplast
Pamuk uçlu çubuklar		Chengyang Global Group

Tablo 3.2. Tez projesi kapsamında kullanılan kimyasalların adları, marka ve özellikleri.

Kimyasal Adı	Marka
Distile su	
NaCl	Applichem
BSA	Thermo Fisher Scientific
Coomassie Brilliant Blue G250	Thermo Fisher Scientific
Magpix Analiz Paneli	Luminex

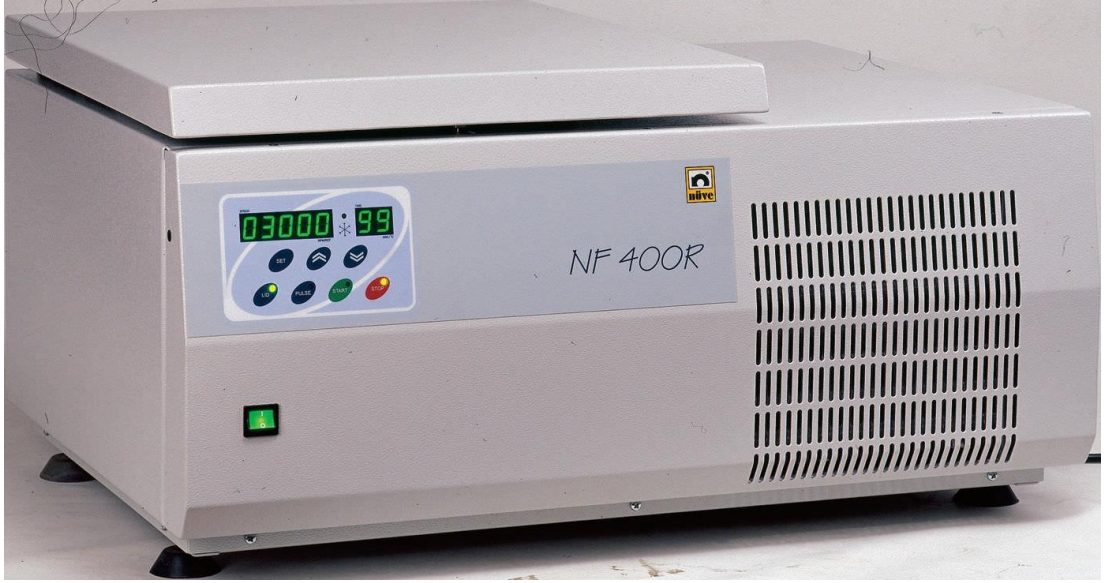
3.2. Yöntem

3.2.1 Örneklerin Toplanması, Saklanması, Transferi

Nazal sıvı örneklerinin toplanması için tek kullanımlık steril pamuk uçlu çubuklar kullanılmıştır. Örnek alma işlemi için bu çubuklar burun içerisine yerleştirildikten sonra 20 saniye beklenmiştir. Çubuklar burun örneği alındıktan sonra, önce uçları kesilerek UV ile sterilize edilmiş 2 ml'lik santrifüj tüpleri içerisine yerleştirilmiştir. Örnek alınır alınmaz steril kan tüpüne aktarılmıştır. Soğuk zincir kuralları uygulanarak klinikten laboratuvara transferleri gerçekleştirilmiştir. Transfer sırasında tüpler içi buz dolu bir tank içerisine konulmuştur. Laboratuvar aşamasındaki işlemlerin ilki tüp içerisine 300 µL serum fizyolojik ekleme işlemidir. Tüp laboratuvara gelir gelmez serum fizyolojik ekleme işlemi takiben santrifüj gerçekleştirilmiştir. 3000 g'de 5 dakika santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu şekilde pamuktaki örneğin eklenen serum fizyolojik içerisinde çözünmesi sağlanmıştır. Tüpte kalan sıvı kısım 2 ml'lik santrifüj tüpüne alınarak -80°C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.1. Nazal sıvı toplamak için kullanılan tüp düzeneği



Şekil 3.2. Toplanan örneklerin santrifüjünde kullanılan santrifüj cihazı

Kan örneklerinin toplanması için EDTA'lı tüpler kullanılmıştır. Kan örneklerinin laboratuvara transferi soğuk zincir kurallarına uygun bir şekilde içi buz dolu tank vasıtasıyla gerçekleştirilmiştir. Laboratuvara taşınan kan örnekleri bekletilmeden santrifüje alınmıştır. Santrifüj 5000 g'de 10 dakika süre içerisinde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen serum -80°C'de muhafaza edilmiştir.



Şekil 3.3. Kan alımında kullanılan EDTA'lı tüpün görünümü

3.2.2 Protein Konsantrasyonu Analizi

Nazal sıvı ve serumdaki toplam protein konsantrasyonunun belirlenmesi için Bradford Yöntemi kullanılmıştır.

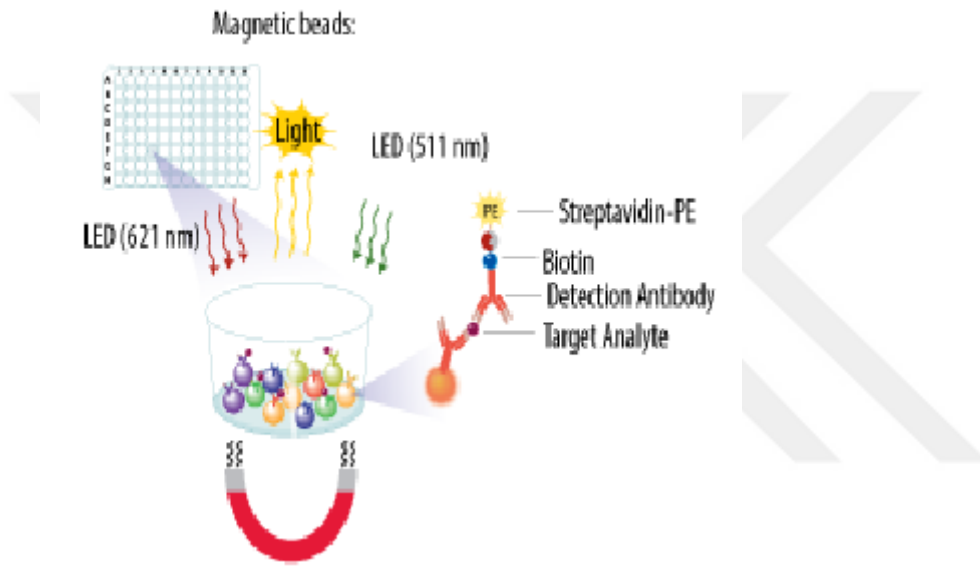
Bovin serum albümini (BSA) muhafaza edildiği +4°C'den çıkarılarak oda sıcaklığında sıcaklığının bir miktar yükselmesi için bekletilmiştir. BSA tüpü kullanılmadan önce birkaç defa tüpün üst kısmı sırasıyla aşağı ve yukarı gelecek şekilde ters-yüz edilmiştir. Böylece tüp içeriğinin homojenliği korunmuştur. Toplam protein konsantrasyonları belirlenecek örnekler 3'lü tekrarlar şeklinde analiz edilmiştir. Ölçüm için örnekler ve standart solüsyonlar mikroplakaya aktarılmıştır. Kör olarak standart yerine su kullanılmıştır. Spektrofotometrede sıfırlama okuması boyanmış suda yapılmıştır. Bir sonraki aşamada boyama için kullanılan ajan olan Coomassie Brilliant Blue G250 boyası kuyucuklara eklenmiştir ve mikrolaka çalkalayıcı vasıtasıyla karıştırılmış, boyanın protein molekülleri ile bağlanması sağlanmıştır. Standart ve örnek çözeltilerinden kuyucuklara 5'er µL ve boyadan 250'şer µL aktarılmıştır. Bu işlem tamamlandıktan sonra mikrolaka 20 dakika boyunca inkübasyon için oda sıcaklığında bekletilmiştir. İnkübasyondan sonra spektrofotometrede absorbans okuma işlemi yapılmıştır. Dalga boyu 595 nm olarak ayarlanmıştır.

3.2.3. Manyetik Luminex® Testi

Manyetik Luminex® Testi çoklu kitleri, Luminex®, MAGPIX®, CCD görüntüleyicilerinde kullanılmak üzere tasarlanmıştır. Alternatif olarak Luminex® 100/200™, Luminex® FLEXMAP 3D®, Bio-Rad® Bio-Plex® dual lazerli akış bazlı sistemlerde ve tarama platformlarında kullanılabilmektedir.

Analite spesifik antikorlar, manyetik mikropartiküllerin yüzeyine kaplanmıştır. Manyetik mikropartiküller, her farklı mikropartikül bölgesine önceden belirlenmiş oranlarda floroforlar ile gömülmüştür. Mikropartiküller, standartlar ve örnekler kuyucukların içerisine pipetleme yöntemi ile aktarılmaktadır. İlgili analitler immobilize antikora bağlanmaktadır. Bağlanmamış maddeler yıkama işlemi ile kuyucuklarda uzaklaştırılmaktadır. Kuyucukların her birine ilgili analite özgü biyotinlenmiş antikor kokteyli eklenmektedir. Bağlanmayan biyotinlenmiş antikorlar yıkanmaktadır. Her bir kuyucuğa biyotinlenmiş antikora bağlanmak üzere streptavidin- fikoeritrin konjugatı (Streptavidin-PE) eklenmektedir. Bağlanmamış

Sterptavidin-PE'yi uzaklaştırmak için son bir yıkama işlemi yapılmaktadır. Mikropartiküller tampon aracılığı ile uzaklaştırılmaktadır ve okuma işlemi için Luminex® MAGPIX® Analizörü kullanılmaktadır. Analizörde bulunan bir magnet, süpermaramanyetik parçacıkları yakalayarak tek sıra halinde tutmaktadır. İki farklı spektral ışık yayan diyot (LED) ile mikropartiküller aydınlatılmaktadır. Bir LED bölgeyi tanımak için her mikropartikülün içindeki boyayı uyarmaktadır. İkinci LED mikropartiküllere bağlanan analit miktarını ölçmek için PE'yi uyarmaktadır. Her kuyucuğun içindeki örnek CCD kamera ile ölçülmektedir. Bu kamera üzerinde uyarı düzeylerini farklılaştırmak için bir filtre ayarı bulunmaktadır.



Şekil 3.4. Luminex analizinin çalışma prensibini gösteren şema

3.2.4. Etik Kurul Onay Belgesi

Çalışmamız Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 17-4/11 numaralı karar ile onaylanmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Remisyon Dönemi Astım Hastası Çocuklar ile Sağlıklı Kontrol Grubu Çocukların Demografik Özelliklerinin Karşılaştırılması

Remisyon dönemi astım hastası grubunu oluşturan çocuklar ile sağlıklı kontrol grubunu oluşturan çocukların sayısı her bir grup için 20'şer kişi olarak belirlenmiştir. Kontrol grubundaki çocukların 11 tanesinin cinsiyeti kız, 9 tanesinin cinsiyeti erkek iken, hasta grubundaki çocukların 8 tanesi kız 12 tanesi erkektir. Kontrol grubunun yaş ortalaması $9,1 \pm 1,3$, hasta grubundaki çocukların yaş ortalaması $8,6 \pm 1,6$ 'dır. Hasta grubundaki çocukların ortalama hastalık süresi $4,1 \pm 2,6$, ailelerindeki astım hastası sayısı ortalama $0,8 \pm 0,4$ 'tür (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Remisyon dönemi astım hastası çocuklar ile sağlıklı kontrol grubu çocukların demografik özelliklerinin karşılaştırılması

Özellikler	Sağlıklı kontrol	Remisyon Dönemi Astım Hastası
Sayı	20	20
Cinsiyet (Kız/Erkek)	11/9	8/12
Yaş	$9,1 \pm 1,3$	$8,6 \pm 1,6$
Hastalık süresi (yıl)	Yok	$4,1 \pm 2,6$
Ailede astımlı hasta	Yok	$0,8 \pm 0,4$

4.2. Remisyon Dönemi Astım Hastası Çocuklar ile Kontrol Grubu Sağlıklı Çocukların Bazı Laboratuvar Bulgularının Karşılaştırılması

Hasta grubunu oluşturan çocuklar ile sağlıklı grubu oluşturan çocuklar arasında bazı laboratuvar bulgular açısından yukarıdaki tabloda da gösterildiği gibi istatistiksel olarak anlamlı fark IgG parametresinde ortaya çıkmıştır ($p=0,05$) (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. Remisyon dönemi astım hastası çocuklar ile sağlıklı kontrol grubu çocukların bazı laboratuvar bulgularının karşılaştırılması

Özellikler	Sağlıklı kontrol	Remisyon Dönemi Astım Hastası	P değeri
SGOT (AST) (U/L)	27.27 ± 4.45	25.30 ± 5.55	0.25
SGPT (ALT) (U/L)	16.50 ± 3.83	16.55 ± 4.61	0.99
GGT (U/L)	12.27 ± 2.63	10.40 ± 2.79	0.2
Totalprotein (g/dL)	6.85 ± 0.60	7.15 ± 0.39	0.1
Albumin (g/dL)	4.13 ± 0.56	4.34 ± 0.31	0.16
Lökosit (10 ³ /µL)	8.30 ± 2.25	8.96 ± 2.83	0.81
Notrofil (%)	47.23 ± 9.85	50.64 ± 12.07	0.59
Lenfosit (%)	41.59 ± 8.91	37.63 ± 11.17	0.29
Monosit (%)	6.72 ± 1.14	6.59 ± 2.45	0.94
Eozinofil (%)	3.44 ± 3.31	3.64 ± 4.46	0.72
Bazofil (%)	1.29 ± 0.85	1.47 ± 0.63	0.19
Eritrosit (10 ³ /µL)	4.80 ± 0.38	4.74 ± 0.43	0.5
Hemoglobin (g/dL)	12.84 ± 1.07	12.68 ± 1.22	0.63
Hematokrit (%)	40.45 ± 4.12	38.33 ± 3.01	0.12
CRP (mg/dL)	0.34 ± 0.58	0.33 ± 0.43	0.94
IgA (mg/dL)	98.55 ± 17.96	124.11 ± 67.09	0.5
IgG (mg/dL)	928.66 ± 63.28	1000.400 ± 186.31	0.05
IgM (mg/dL)	79.88 ± 13.11	90.58 ± 25.26	0.23

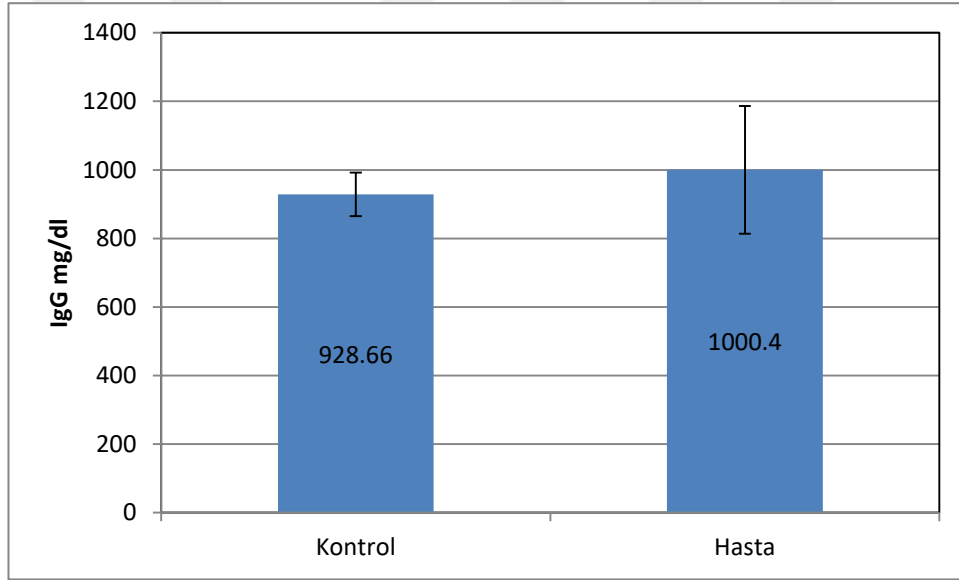
4.3. Remisyon Grubu Astım Hastası Çocuklar ile Sağlıklı Kontrol Grubu Çocuklarda İnflamatuvar Mediatorlerin Karşılaştırılması

Hasta grubu çocuklar ile kontrol grubu çocuklar arasında araştırılan parametreler arasında serumdaki IL-6, IL-13, TSLP, IL-5, IL-12p70 sitokinlerinin ortalama değerleri, nazal sıvıdaki IL-6, IL-33, IL-5, periostin sitokinlerinin ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar ortaya çıkmıştır (Tablo 4.3, Grafik 4.1-10). Serumdaki IL-33, IL-4, GM-CSF, periostin sitokinlerinin ortalama değerleri ile nazal sıvıdaki IL-4, GM-CSF, IL-13, TSLP, IL-12p70 sitokinlerinin ortalama değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmamaktadır.

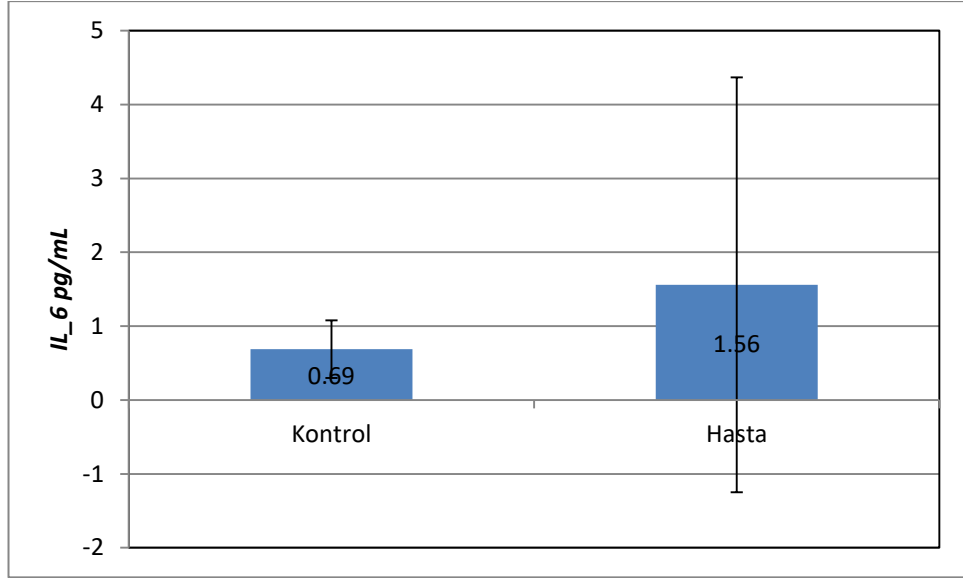
Tablo 4.3. Remisyon dönemi astım hastası çocuklar ile sağlıklı kontrol grubu çocuklarda araştırılan parametreler açısından oluşan farkların karşılaştırılması

Özellikler	Hasta sayısı	Sağlıklı Kontrol	Remisyon Dönemi Astım Hastası	P değeri
Serum IL-6 (pg/ μ L)	n=20	0.69 $\pm$ 0.39	1.56 $\pm$ 2.81	0.05
Serum IL-33 (pg/ μ L)	n=20	9.23 $\pm$ 10.11	23.52 $\pm$ 46.41	0.94
Serum IL-4 (pg/ μ L)	n=20	1.15 $\pm$ 1.11	4.92 $\pm$ 9.27	0.16
Serum GM-SCF (pg/ μ L)	n=20	0.67 $\pm$ 0.31	2.67 $\pm$ 5.46	0.14
Serum IL-13 (pg/ μ L)	n=20	84.36 $\pm$ 42.62	178.31 $\pm$ 174.16	0.015
Serum TSLP (pg/ μ L)	n=20	0.52 $\pm$ 0.32	1.07 $\pm$ 1.29	0.023
Serum IL-5 (pg/ μ L)	n=20	0.98 $\pm$ 0.11	1.88 $\pm$ 2.33	0.007
Serum Periostin (μ g/ μ L)	n=20	124.66 $\pm$ 23.784	129.852 $\pm$ 35.760	0.72
Serum IL-12p70 (pg/ μ L)	n=20	19.11 $\pm$ 8.35	200.14 $\pm$ 689.11	0.004
Nazal IL-6 (pg/ μ L)	n=20	6.76 $\pm$ 8.52	24.82 $\pm$ 65.48	0.022
Nazal IL-33 (pg/ μ L)	n=20	27.56 $\pm$ 30.83	146.23 $\pm$ 160.85	0.006
Nazal IL-4 (pg/ μ L)	n=20	11.46 $\pm$ 10.14	14.88 $\pm$ 13.17	0.36

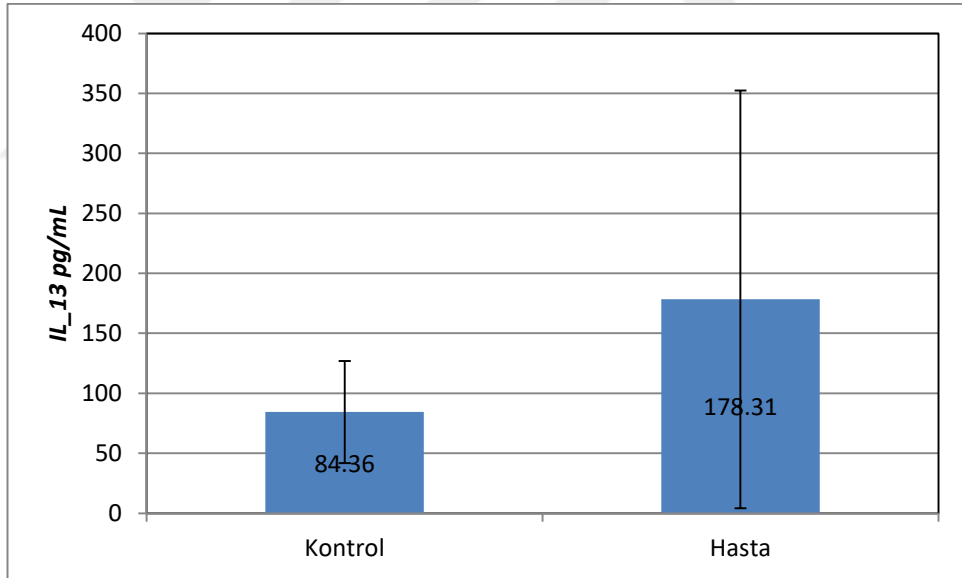
Nazal GM-SCF (pg/ μ L)	n=20	2.37 $\pm$ 1.23	2.33 $\pm$ 0.79	0.83
Nazal IL-13 (pg/ μ L)	n=20	282.54 $\pm$ 154.33	364.02 $\pm$ 331.23	0.99
Nazal TSLP (pg/ μ L)	n=20	0.84 $\pm$ 0.60	1.31 $\pm$ 1.48	0.61
Nazal IL-5 (pg/ μ L)	n=20	0.97 $\pm$ 0.14	1.50 $\pm$ 0.75	0.01
Nazal Periostin (pg/ μ L)	n=20	1.951 $\pm$ 3.797	12.587 $\pm$ 31.553	0.00
Nazal IL-12p70 (pg/ μ L)	n=20	22.72 $\pm$ 6.93	29.14 $\pm$ 22.13	0.58



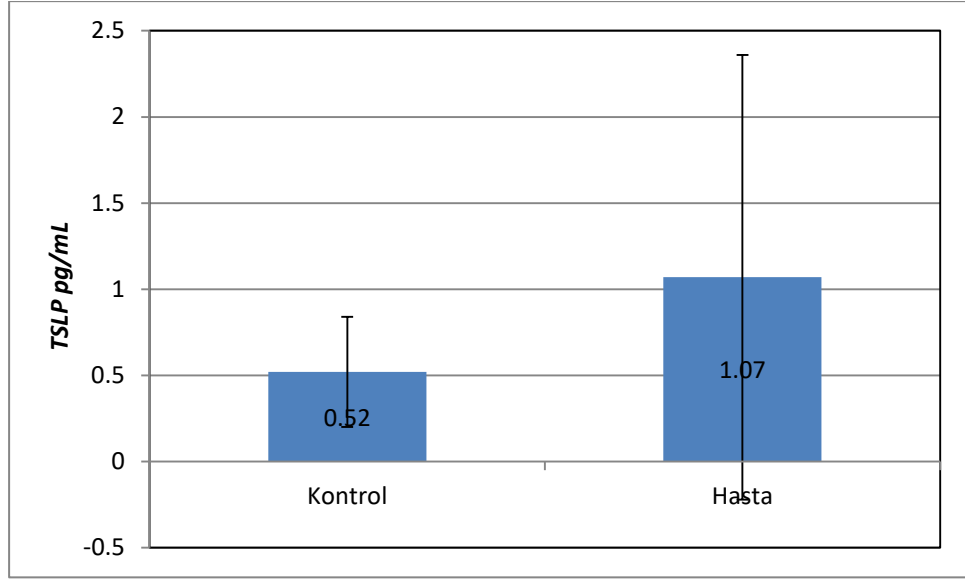
Grafik 4.1. Remisyon dönemi astım hastası grubu çocuklar ile sağlıklı kontrol grubu çocukların serumlarında ölçülen ortalama IgG düzeyleri arasındaki fark ($p=0,05$).



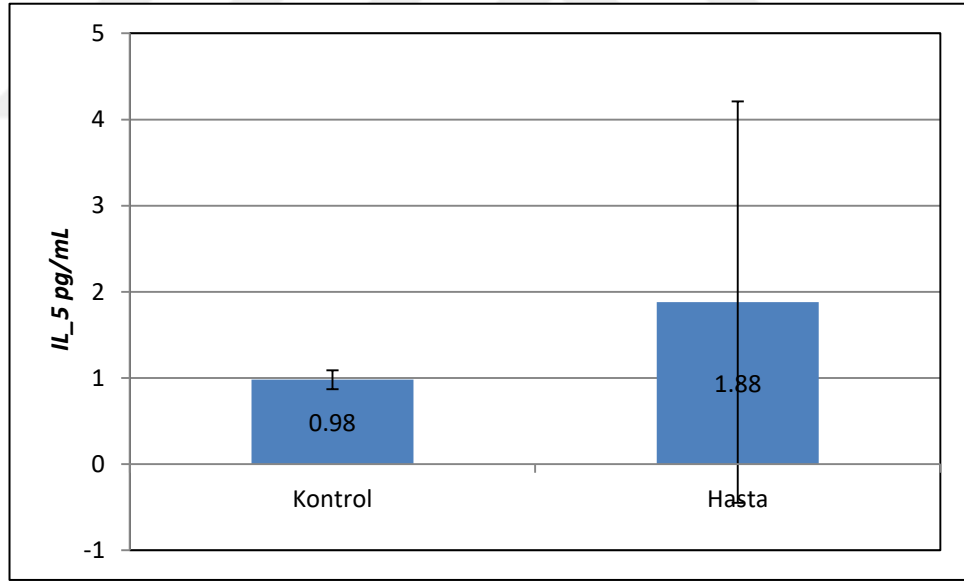
Grafik 4.2. Remisyon dönemi astım hastası grubu çocuklar ile sağlıklı kontrol grubu çocukların serumlarında ölçülen ortalama IL-6 sitokini düzeyleri arasındaki fark ($p=0,05$).



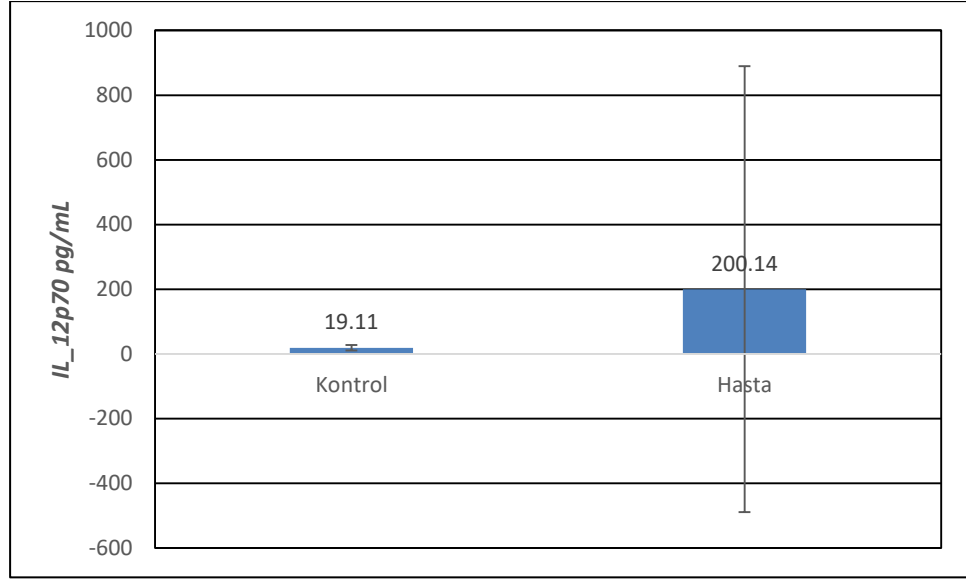
Grafik 4.3. Remisyon dönemi astım hastası grubu çocuklar ile sağlıklı kontrol grubu çocukların serumlarında ölçülen ortalama IL-13 sitokini düzeyleri arasındaki fark ($p<0,05$).



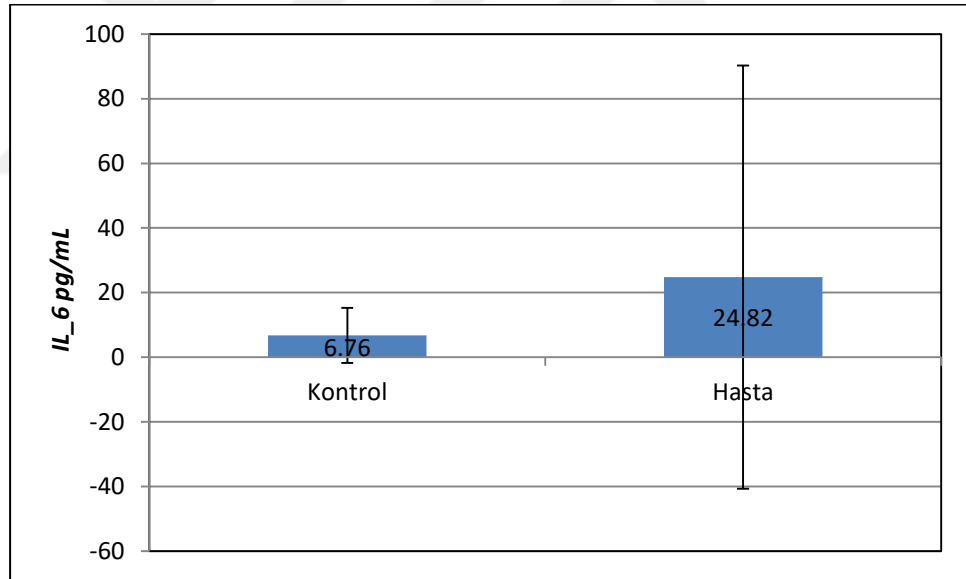
Grafik 4.4. Remisyon dönemi astım hastası grubu çocuklar ile sağlıklı kontrol grubu çocukların serumlarında ölçülen ortalama TSLP sitokini düzeyleri arasındaki fark ($p<0,05$).



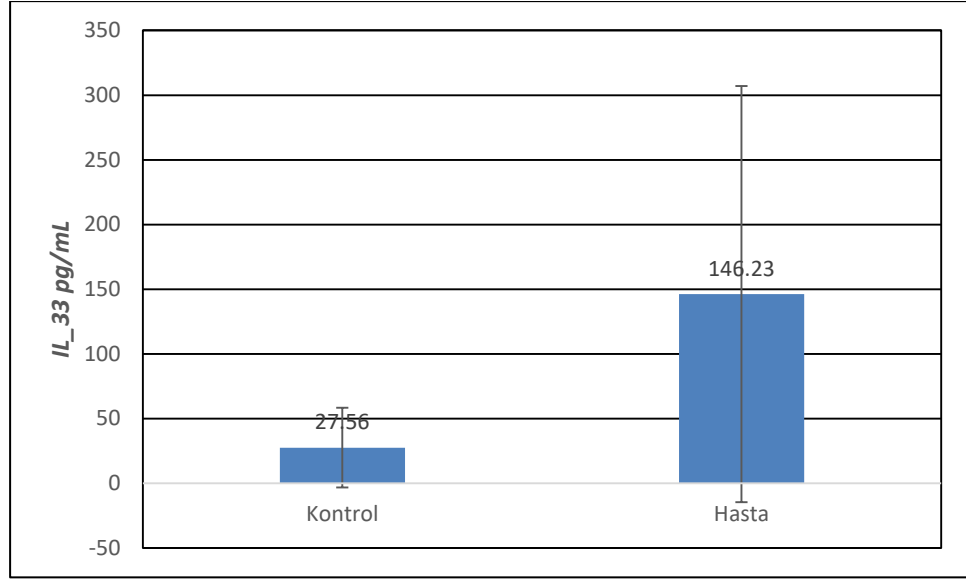
Grafik 4.5. Remisyon dönemi astım hastası grubu çocuklar ile sağlıklı kontrol grubu çocukların serumlarında ölçülen ortalama IL-5 sitokini düzeyleri arasındaki fark ($p<0,05$).



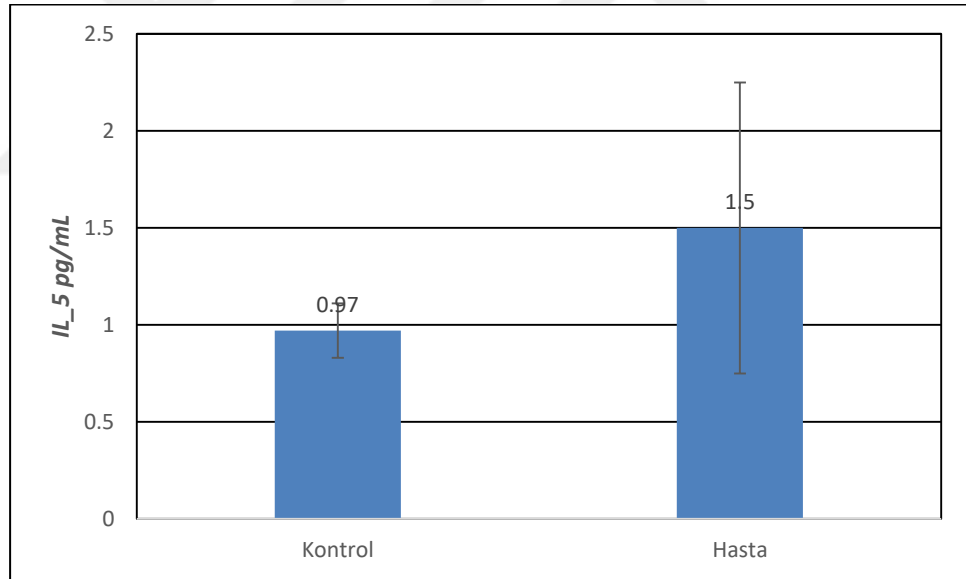
Grafik 4.6. Remisyon dönemi astım hastası grubu çocuklar ile sağlıklı kontrol grubu çocukların serumlarında ölçülen ortalama IL-12p70 sitokini düzeyleri arasındaki fark ($p<0,05$).



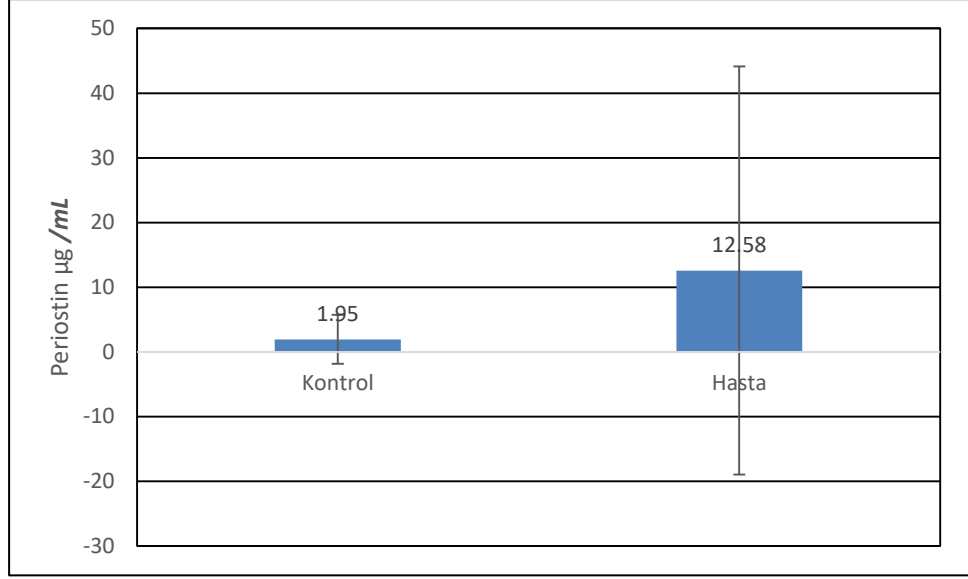
Grafik 4.7. Remisyon dönemi astım hastası grubu çocuklar ile sağlıklı kontrol grubu çocukların nazal sıvılarında ölçülen ortalama IL-6 sitokini düzeyleri arasındaki fark ($p<0,05$).



Grafik 4.8. Remisyon dönemi astım hastası grubu çocuklar ile sağlıklı kontrol grubu çocukların nazal sıvılarında ölçülen ortalama IL-33 sitokini düzeyleri arasındaki fark ($p<0,001$).



Grafik 4.9. Remisyon dönemi astım hastası grubu çocuklar ile sağlıklı kontrol grubu çocukların nazal sıvılarında ölçülen ortalama IL-5 sitokini düzeyleri arasındaki fark ($p<0,05$).



Grafik 4.10. Remisyon dönemi astım hastası grubu çocuklar ile sağlıklı kontrol grubu çocukların nazal sıvılarında ölçülen ortalama periostin sitokini düzeyleri arasındaki fark ($p<0,001$).

4.4. Remisyon Dönemindeki Astım Hastası Çocuklarda Serum ve Nazal Sıvıdaki Sitokin Düzeylerinin Korelasyonu

Remisyon dönemindeki astım hastası çocuk grubunda bazı sitokinlerin serumdaki konsantrasyonunda meydana gelen değişimlerle nazal sıvıdaki bazı sitokinlerin konsantrasyonunda meydana gelen değişimler arasında bir korelasyon olduğu görülmüştür.

Hasta grubunda IgA'nın serum düzeyindeki artışı ile nazal sıvıdaki periostin düzeyindeki artış arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$) yüksek düzeyde bir korelasyon ($r=0,74$) bulunmaktadır. IgA'nın serum düzeyindeki artışı ile IgG'nin serum düzeyindeki artışı arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) orta düzeyde bir korelasyon ($r=0,68$) bulunmaktadır (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Hasta grubunda serum IgA konsantrasyonu ile nazal sıvı ve serumda korelasyonu bulunan sitokinler

Serum IgA (mg/dl)	Nazal Sitokin	Hasta (n)	p değeri	r değeri
	Nazal Periostin (pg/µL)	20	<0.001	0.74
	Serum Sitokin	Hasta (n)	p değeri	r değeri
	IgG (mg/dl)	20	<0.05	0.68

Hasta grubunda IL-6'nın serum düzeyindeki artışı ile nazal sıvıdaki GM-CSF düzeyindeki artış arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) orta düzeyde bir korelasyon ($r=0,5$) bulunmaktadır. IL-6'nın serum düzeyindeki artış ile serumdaki IL-33, IL-4, GM-CSF, IL-13, TSLP, IL-5, IL-12p70 sitokinlerinin düzeyindeki artış arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$) yüksek düzeyde bir korelasyon (sırasıyla $r=0,98$, $r=0,98$, $r=0,98$, $r=0,98$, $r=0,98$, $r=0,94$, $r=0,98$) bulunmaktadır (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. Hasta grubunda serum IL-6 konsantrasyonu ile nazal sıvı ve serumda korelasyonu bulunan sitokinler

Serum IL-6 (pg/μL)	Nazal Sitokin	Hasta (n)	p değeri	r değeri
	GM-CSF (pg/μL)	20	<0.05	0.5
	Serum Sitokin	Hasta (n)	p değeri	r değeri
	IL-33 (pg/μL)	20	<0.001	0.98
	IL-4 (pg/μL)	20	<0.001	0.98
	GM-CSF (pg/μL)	20	<0.001	0.98
	IL-13 (pg/μL)	20	<0.001	0.98
	TSLP (pg/μL)	20	<0.001	0.98
	IL-5 (pg/μL)	20	<0.001	0.94
	IL-12p70 (pg/μL)	20	<0.001	0.98

Hasta grubunda IL-33'ün serum düzeyindeki artışı ile nazal sıvıdaki GM-CSF ve TSLP düzeyindeki artış arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) orta düzeyde bir korelasyon (sırasıyla $r=0,53$, $r=0,47$) bulunmaktadır. IL-33'ün serumdaki artışı ile serumdaki IL-6, IL-4, GM-CSF, IL-13, TSLP, IL-5, IL-12p70 sitokinlerinin düzeyinin artışı arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$) yüksek düzeyde bir korelasyon (sırasıyla $r=0,98$, $r=0,99$, $r=0,99$, $r=0,99$, $r=0,99$, $r=0,96$, $r=0,99$) bulunmaktadır (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. Hasta grubunda serum IL-33 konsantrasyonu ile nazal sıvı ve serumda korelasyonu bulunan sitokinler

Serum IL-33 (pg/μL)	Nazal Sitokin	Hasta (n)	p değeri	r değeri
	GM-CSF (pg/μL)	20	<0.05	0.53
	TSLP (pg/μL)	20	<0.05	0.47
	Serum Sitokin	Hasta (n)	p değeri	r değeri
	IL-6 (pg/μL)	20	<0.001	0.98
	IL-4 (pg/μL)	20	<0.001	0.99
	GM-CSF (pg/μL)	20	<0.001	0.99
	IL-13 (pg/μL)	20	<0.001	0.99
	TSLP (pg/μL)	20	<0.001	0.99
	IL-5 (pg/μL)	20	<0.001	0.96
	IL-12p70 (pg/μL)	20	<0.001	0.99

Hasta grubunda IL-4'ün serum düzeyindeki artışı ile nazal sıvıdaki GM-CSF ve TSLP düzeyindeki artış arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) orta düzeyde bir korelasyon (sırasıyla $r=0,52$, $r=0,46$) bulunmaktadır. IL-4'ün serumdaki düzeyinde artış ile IL-6, IL-33, GM-CSF, IL-13, TSLP, IL-5, IL-12p70 sitokinlerinin serum düzeyindeki artış arasında istatistiksel olarak anlamlı yüksek bir korelasyon (sırasıyla $r=0,98$, $r=0,99$, $r=0,99$, $r=0,99$, $r=0,99$, $r=0,96$, $r=0,99$) bulunmaktadır (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. Hasta grubunda serum IL-4 konsantrasyonu ile nazal sıvı ve serumda korelasyonu bulunan sitokinler

Serum IL-4 (pg/μL)	Nazal Sitokin	Hasta (n)	p değeri	r değeri
	GM-CSF (pg/μL)	20	<0.05	0.52
	TSLP (pg/μL)	20	<0.05	0.46
	Serum Sitokin	Hasta (n)	p değeri	r değeri
	IL-6 (pg/μL)	20	<0.001	0.98
	IL-33 (pg/μL)	20	<0.001	0.99
	GM-CSF (pg/μL)	20	<0.001	0.99
	IL-13 (pg/μL)	20	<0.001	0.99
	TSLP (pg/μL)	20	<0.001	0.99
	IL-5 (pg/μL)	20	<0.001	0.96

	IL-12p70 (pg/ μ L)	20	<0.001	0.99
--	------------------------	----	--------	------

Hasta grubunda GM-CSF'nin serum düzeyindeki artış ile nazal sıvıdaki GM-CSF ve TSLP düzeyindeki artış arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) orta düzeyde bir korelasyon (sırasıyla $r=0,53$, $r=0,46$) bulunmaktadır. GM-CSF'nin serumdaki düzeyinde artış ile IL-6, IL-33, IL-4, IL-13, TSLP, IL-5 sitokinlerinin serum düzeyindeki artışı arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$) yüksek düzeyde bir korelasyon ($r=0,98$, $r=0,99$, $r=0,99$, $r=0,99$, $r=0,99$, $r=0,96$) bulunmaktadır (Tablo 4.8).

Tablo 4.8. Hasta grubunda serum GM-CSF konsantrasyonu ile nazal sıvı ve serumda korelasyonu bulunan sitokinler

Serum GM-CSF (pg/ μ L)	Nazal Sitokin	Hasta (n)	p değeri	r değeri
	GM-CSF (pg/ μ L)	20	<0.05	0.53
	TSLP (pg/ μ L)	20	<0.05	0.46
	Serum Sitokin	Hasta (n)	p değeri	r değeri
	IL-6 (pg/ μ L)	20	<0.001	0.98
	IL-33 (pg/ μ L)	20	<0.001	0.99
	IL-4 (pg/ μ L)	20	<0.001	0.99
	IL-13 (pg/ μ L)	20	<0.001	0.99
	TSLP (pg/ μ L)	20	<0.001	0.99
	IL-5 (pg/ μ L)	20	<0.001	0.96

Hasta grubunda IL-13'ün serum düzeyindeki artış ile nazal sıvıdaki TSLP düzeyindeki artış arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) orta düzeyde bir korelasyon ($r=0,46$) bulunmaktadır. IL-13'ün serumdaki düzeyinde artış ile IL-6, IL-33, IL-4, GM-CSf, TSLP, IL-5, IL-12p70 sitokinlerinin serumdaki düzeyinde artış arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$) yüksek bir korelasyon (sırasıyla $r=0,98$, $r=0,99$, $r=0,99$, $r=0,99$, $r=0,99$, $r=0,96$, $r=0,99$) bulunmaktadır (Tablo 4.9).

Tablo 4.9. Hasta grubunda serum IL-13 konsantrasyonu ile nazal sıvı ve serumda korelasyonu bulunan sitokinler

Serum IL-13 (pg/μL)	Nazal Sitokin	Hasta (n)	p değeri	r değeri
	TSLP (pg/μL)	20	<0.05	0.46
	Serum Sitokin	Hasta (n)	p değeri	r değeri
	IL-6 (pg/μL)	20	<0.001	0.98
	IL-33 (pg/μL)	20	<0.001	0.99
	IL-4 (pg/μL)	20	<0.001	0.99
	GM-CSF (pg/μL)	20	<0.001	0.99
	TSLP (pg/μL)	20	<0.001	0.99
	IL-5 (pg/μL)	20	<0.001	0.96
	IL-12p70 (pg/μL)	20	<0.001	0.99

Hasta grubunda TSLP'nin serum düzeyindeki artış ile nazal sıvıdaki GM-CSF ve TSLP düzeyindeki artış arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) orta düzeyde bir korelasyon (sırasıyla $r=0,53$, $r=0,46$) bulunmaktadır. TSLP'nin serumdaki düzeyinin artışı ile IL-6, IL-33, IL-4, GM-CSF, IL-13, IL-5, IL-12p70 sitokinlerinin serumdaki düzeyinde artışı arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$) yüksek bir korelasyon (sırasıyla $r=0,98$, $r=0,99$, $r=0,99$, $r=0,99$, $r=0,99$, $r=0,96$, $r=0,99$) bulunmaktadır (Tablo 4.10).

Tablo 4.10. Hasta grubunda serum TSLP konsantrasyonu ile nazal sıvı ve serumda korelasyonu bulunan sitokinler

Serum TSLP (pg/μL)	Nazal Sitokin	Hasta (n)	p değeri	r değeri
	GM-CSF (pg/μL)	20	<0.05	0.53
	TSLP (pg/μL)	20	<0.05	0.46
	Serum Sitokin	Hasta (n)	p değeri	r değeri
	IL-6 (pg/μL)	20	<0.001	0.98
	IL-33 (pg/μL)	20	<0.001	0.99
	IL-4 (pg/μL)	20	<0.001	0.99
	GM-CSF (pg/μL)	20	<0.001	0.99
	IL-13 (pg/μL)	20	<0.001	0.99

	IL-5 (pg/ μ L)	20	<0.001	0.96
	IL-12p70 (pg/ μ L)	20	<0.001	0.99

Hasta grubunda IL-5'in serum düzeyindeki artış ile nazal sıvıdaki GM-CSF ve TSLP düzeyindeki artış arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$) orta düzeyde bir korelasyon (sırasıyla $r=0,52$, $r=0,47$) bulunmaktadır. Serumdaki IL-5 düzeyinin artışı ile IL-6, IL-33, IL-4, GM-CSF, IL-13, TSLP sitokinlerinin serumdaki düzeylerinin artışı arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$) yüksek bir korelasyon (sırasıyla $r=0,94$, $r=0,96$, $r=0,96$, $r=0,96$, $r=0,96$, $r=0,96$) bulunmaktadır (Tablo 4.11).

Tablo 4.11. Hasta grubunda serum IL-5 konsantrasyonu ile nazal sıvı ve serumda korelasyonu bulunan sitokinler

Serum IL-5 (pg/μL)	Nazal Sitokin	Hasta (n)	p değeri	r değeri
	GM-CSF (pg/ μ L)	20	<0.001	0.52
	TSLP (pg/ μ L)	203	<0.001	0.47
	Serum Sitokin	Hasta (n)	p değeri	r değeri
	IL-6 (pg/ μ L)	20	<0.001	0.94
	IL-33 (pg/ μ L)	20	<0.001	0.96
	IL-4 (pg/ μ L)	20	<0.001	0.96
	GM-CSF (pg/ μ L)	20	<0.001	0.96
	IL-13 (pg/ μ L)	20	<0.001	0.96
	TSLP (pg/ μ L)	20	<0.001	0.96

Hasta grubunda periostinin serum düzeyindeki artış ile nazal sıvıdaki IL-5 düzeyindeki artış arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) orta düzeyde bir korelasyon ($r=0,47$) bulunmaktadır (Tablo 4.12).

Tablo 4.12. Hasta grubunda serum periostin konsantrasyonu ile nazal sıvıda korelasyonu bulunan sitokinler

Serumdaki Sitokin	Nazal Sitokin	Hasta (n)	p değeri	r değeri
Periostin (pg/ μ L)	IL-5 (pg/ μ L)	20	<0.05	0.47

Hasta grubunda IL-12p70'in serum düzeyindeki artış ile nazal sıvıdaki GM-CSF düzeyindeki artış arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,05$) orta düzeyde bir korelasyon ($r=0,513$) bulunmaktadır. Serumda IL-12p70 düzeyinin artışı ile IL-6, IL-33, IL-4, GM-CSF, IL-13, TSLP, IL-5 sitokinlerinin serumdaki düzeyinin artışı arasında istatistiksel olarak anlamlı ($p<0,001$) yüksek bir korelasyon (sırasıyla $r=0,98$, $r=0,99$, $r=0,99$, $r=0,99$, $r=0,99$, $r=0,99$, $r=0,95$) bulunmaktadır (Tablo 4.13).

Tablo 4.13. Hasta grubunda serum IL-12p70 konsantrasyonu ile nazal sıvı ve serumda korelasyonu bulunan sitokinler

Serum IL-12p70 (pg/ μ L)	Nazal Sitokin	Hasta (n)	p değeri	r değeri
	GM-CSF (pg/ μ L)	20	<0.05	0.513
	Serum Sitokin	Hasta (n)	p değeri	r değeri
	IL-6 (pg/ μ L)	20	<0.001	0.98
	IL-33 (pg/ μ L)	20	<0.001	0.99
	IL-4 (pg/ μ L)	20	<0.001	0.99
	GM-CSF (pg/ μ L)	20	<0.001	0.99
	IL-13 (pg/ μ L)	20	<0.001	0.99
	TSLP (pg/ μ L)	20	<0.001	0.99
	IL-5 (pg/ μ L)	20	<0.001	0.95

5. TARTIŞMA

Astım, gelişiminde birçok hücrenin rol oynadığı kronik ve inflamatuvar bir havayolu hastalığıdır (Douwes et al. 2002), (King 1999). Yapısal olarak kronik hava yolu inflamasyonu, fizyolojik olarak da hava yolunda daralma ve hava akımı kısıtlanması ile kendini göstermektedir (Global Initiative For Asthma (GINA) 2017). Hava yolu obstrüksiyonu ile karakterize olan astım, çocuklarda genelde ataklar halinde seyreder. Bu ataklar kendiliğinden geri dönüşlü olabilirken tedavi de gerektirebilmektedir (Elias et al. 2003).

Astım gelişiminde, genetik faktörler gibi kişiyle ilgili risk faktörleri ve birtakım çevresel faktörler etkilidir (Busse and Lemanske Jr 2001). Astım gelişiminde genetik faktörlerin büyük önemi bulunmaktadır (Ober 2005); her iki ebeveynde astım bulunan çocukların, tek bir ebeveynde astım bulunanlara göre daha yüksek astım oranına sahip oldukları belirlenmiştir (Holgate 1999). Beden kitle indeksinin arttığı çocuk ve erişkin bireylerde astım semptomlarında artış gözlenmektedir (Schachter et al. 2001), (Akerman, Calacanis, and Madsen 2004). Çocukluk çağında erkeklerde kızlara göre astım daha yüksek oranda görülür, erişkin bireylerde daha çok kadınlarda astımla daha sık görülmektedir. (Global Initiative For Asthma (GINA) 2017), (Ober 2005). Astım gelişiminde alerjenlerin alevlenmeye sebep oldukları bilinmekle birlikte, oynadıkları rol tam olarak netleştirilememiştir (Global Initiative For Asthma (GINA) 2017). Sigara kullanımı veya pasif sigara içicisi olunması astım semptomlarının ağırlaşmasına neden olmaktadır (Global Initiative For Asthma (GINA) 2017).

2011 yılı itibari ile astımla ilgili yapılan araştırmalar, astım yükünü azaltmak üzere erken müdahaleye yönelik stratejilerin geliştirilmesi ve kişiselleştirilmiş astım tedavisi üzerine yoğunlaşmıştır ve önemli ilerlemeler kaydedilmiştir (Szeffler 2012). Uzun süre etkili olan B adrenerejik -agonistleri ve inhale kortikosteroidlerin kullanımı astım alevlenmelerinin oluşma riskini azaltmaktadır. Bu tedavi astım kontrolünün sağlanmasında yararlı bir etkiye sahiptir (O'Byrne 2011). Ayrıca, lökotrien reseptör antagonistleri, omalizumab, balgam eozinofil ayarlı tedavi ve balgam eozinofilisi olan hastalarda anti-IL-5, astım alevlenme riskini azaltmak için kullanılabilir (O'Byrne 2011). Genel astım bakımının daha iyi organizasyonu, büyük sağlık bakım sistemlerinde astım sonuçlarını iyileştirmek için kullanılabilir (Schatz and Zeiger

2011). Genetik keşiflerdeki ilerlemeler, astım riski taşıyan ve belirli astım fenotiplerinin gelişiminin belirlenmesinde yardımcı olacaktır (Cookson, Moffatt, and Strachan 2011), (I. V. Yang and Schwartz 2011). Bu tür araçların bulunması, astım tedavisine proaktif önleyici yaklaşım getirmelidir (Szeffler 2013).

Carpaij ve ark.'nın 39 yıldan fazla bir sürenin incelenmesini kapsayan araştırmalarında, çocukluk çağı astımı sonrası kalıcı remisyon, araştırılan olguların sadece %11'inde saptansa bile, mümkün olduğunu göstermektedir.

Stelmach ve ark.'nın araştırmasında spesifik immünolojik terapi (SİT) uygulanıp kesildikten sonraki 3 yıllık (SİT3 grubu) ve 5 yıllık (SİT5 grubu) takip periyodunda SİT3 grubundaki hastaların %50'si ve SİT5 grubundaki hastaların %54,2'sinde astım remisyonu saptanmıştır. SİT sırasında astım remisyonu olarak belirli bir oranda hastada tam klinik iyileşme de gözlenmiştir (Stelmach et al. 2012).

Yavuz ve ark.'nın araştırmasında 2002 ile 2012 yılları arasında izlemi gerçekleştirilen astım hastalarının %24,4'ünün hem ergenlik döneminde hem genç yetişkinlik döneminde klinik astım remisyonuna sahip oldukları, %9'unun ergenlik döneminde değil ama genç yetişkinlik döneminde remisyonunda oldukları, %39,7'sinin ise hiç remisyonunda olmadıkları saptanmıştır (Yavuz et al. 2014).

Kim ve ark. remisyon dönemindeki ve astım hastası 30'ar çocuk ile yaptıkları araştırmalarında, toplam serum IgE düzeyleri ve kan eozinofil yüzdesini astım grubunda en yüksek bulmuşlardır (sırasıyla ortalama $\pm$ standart sapma; $552,0 \pm 374,5$ kU / L IgE ve kan eozofilleri $\%8,7 \pm 4,3$). Astım grubunun hava yolu mikrobiyomunda prostaglandin E sentaz eksikliğinin, çocukluk çağı astımının devam etmesi ile ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir. Araşidonik asit metabolizması ile ilişkili genler görece astım ve remisyon gruplarında daha yüksek olmasına rağmen, astım grubundaki mikrobiyotaların fonksiyonel genlerinin, remisyon grubundakilerden farklı olduğu saptanmıştır. Araşidonik asitin daha sonra havayolu mikrobiyomu ile tromboksan A2 (TXA2), prostaglandin F2 alfa (PGF2 α), prostaglandin D2 (PGD2), prostasiklin (PGI2) ve PGE2'ye dönüştürülebilen PGH2'ye metabolize edilebileceği yorumu yapılmıştır (Kim et al. 2018).

TSLP epitelyal hücreler tarafından en çok akciğerlerde ve deride üretilmektedir (Ziegler 2012). TSLP'nin önceleri bir lenfosit büyüme faktörü olduğu

düşünülmüştür, sonraları dendritik hücreler, mast hücreleri, eozinofiller ve hava yolu düz kas hücreleri üzerinde etkileri olduğu açıkça ortaya çıkarılmıştır (West, Kashyap, and Leonard 2012).

Andersson ve ark.'nın araştırmasında çocukluk çağı astımının 7-8 yaşından 19 yaşına kadar olan bölümünde remisyon olasılığının büyük ölçüde duyarlılaşma durumu, özellikle hayvanlara duyarlılık, astım şiddeti ve cinsiyetin kadın olması faktörleriyle ters yönde arttığı belirlenmiştir (Andersson et al. 2013).

Çocukluk çağında erkeklerde kızlara göre astım daha yüksek oranda görülür, erişkin bireylerde daha çok kadınlarda astımla daha sık görülmektedir (Global Initiative For Asthma (GINA) 2017), (Ober 2005). Toplam 197 astım hastası çocuk ile yaptıkları araştırmada astım semptomları 6 yaşın altında başlamıştır. 71 olguda (%36) klinik remisyonun saptandığı ve spirometre kriterlerine göre 65 çocuğun (%33) tam remisyon durumunda bulunduğu belirlenmiştir. Astım grubunun semptomları ortalama 3,9 yaşında, remisyon grubunun semptomları ortalama 4,2 yaşında başlamıştır. Bu araştırma, hastalık başlangıcı ve klinik remisyonun başladığı yaşlar arasında anlamlı bir ilişki olduğunu göstermiştir, iki yaşından sonra hastalığın gelişme riskinin yüksek olduğu belirlenmiştir. Ergenlik döneminde ve sonrasında, akciğer ve hava yolu büyümesi nedeniyle, erkeklerde astım remisyonu daha fazla beklenebilmektedir.

Astım patogenezinde IgE ile önemli bir bağlantı bulunmaktadır. IgE'ye bağlı yol alerjik astım ile ilişkiliyken, alerjik olmayan astım bu yola bağlı değildir (Platts-Mills 2001). Alerjik astım mekanizması alerjenle karşılaşınca devreye girmektedir. Alerjenler ev içindeki toz maytları, polenler, fungal sporlar, hamamböcekleri olabilmektedir. Hava yolu epitelyumundaki dendritik hücreler ve submukoza hücreleri solunan alerjenleri algılamaktadır. Dendritik hücreler sekonder lenfatik sistem hücrelerine göç etmektedirler. Bu hücreler B ve T lenfositleridir. Dendritik hücreler barındırdıkları antijen ile majör histokompatibilite kompleksi (MHK) II ile B ve T hücrelerinde işlenmektedirler. B lenfositleri IgE'yi üretmektedir. IgE mast hücreleri ve bazofiller üzerindeki FcεRI'ya yüksek afinite ile bağlanmaktadır. Alerjenle tekrar karşılaştığında çapraz reaksiyon sonucu histamin, prostoglandin, lökotrien, sitokin, kemokin medyatörlerinin salınımı gerçekleşmektedir (Ishmael 2011), (Bharadwaj, Bewtra, and Agrawal 2007). Bu medyatörler hava yolundaki düz

kas hücrelerinin büzüşmesine neden olmakta, mukozal ödem ve sekresyonu artırmaktadır. Kemokinler inflamatuvar hücrelerin konakçıları olarak hareket etmektedir. Bu inflamatuvar hücreler eozinofiller, makrofajlar, nötrofiller ve T lenfositlerdir (Agrawal and Shao 2010). Aktifleşmiş lökositlerden salınan ürünler hava yolunda alerjene karşı oluşan yüksek yanıtın temelini oluşturmaktadır. Bu ürünler epitelyal tabakanın bozulmasına, hava yolunun biçiminin değişmesine, bronkokonstriksiyona ve ekstrasellüler matriksin dekompozisyonuna neden olmaktadır (Ishmael 2011), (Agrawal and Shao 2010). Th2 hücrelerinin seçici olarak yayılımı, IL-4, IL-5, IL-13 sitokinlerinin salınmasına neden olmaktadır. IL-4 ve IL-13 hava yolunda oluşan yüksek yanıt ve goblet hücre metaplazisini, IL-5 hava yolu eozinofilisini meydana getirmektedir (McGee and Agrawal 2006). Hava yolunda zamanla meydana gelen kalıcı değişiklikler, goblet hücresi hiperplazisi, sub-epitelyal fibrozis ve hava yolu düz kasında artan kollajen depozisyonu ile sonuçlanmaktadır (Blume and Davies 2013).

Araştırmamızda serum IgA düzeyi hasta grubunda ortalama $124,12 \pm 67,10$ pg/ μ L, kontrol grubunda ortalama $98,56 \pm 17,96$ pg/ μ L olarak bulunmuştur. Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı değildir. Li ve ark.'nın araştırmasında kontrol grubu olarak belirlenen hasta grubunun IgA düzeyi, tedavi grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (Y. L. Li et al. 2004).

Serum IgG düzeylerini hasta grubunda ortalama $1000,4 \pm 186,32$ pg/ μ L, kontrol grubunda $928,67 \pm 63,26$ pg/ μ L olarak bulunmuştur. Bu sonuç, gruplar arasında anlamlı fark bulunmadığını göstermiştir. Li ve ark. remisyon dönemindeki astım grubu hastalardaki IgG düzeyini, tedavi gören çocuklara göre istatistiksel anlamlı daha yüksek bulmuştur (Y. L. Li et al. 2004). Han ve ark. astım hastası çocuklarla yaptıkları araştırmalarında remisyon döneminde tedavi uygulanmayan çocuk hastalarda IgG düzeyinin, tedavi gören gruba göre istatistiksel anlamlı daha yüksek bulunduğu, tedavi gören grubun tedavisi sonlandırıldıktan sonra IgG düzeylerinin yükselmeye devam ettiği belirtilmiştir (J. Han and Cui 2011).

Araştırmamızda serum IL-5 konsantrasyonu hasta grubunda ortalama $1,88 \pm 2,34$ pg/ μ L, kontrol grubunda ortalama $0,98 \pm 0,11$ pg/ μ L olarak bulunmuştur. İstatistiksel olarak bu sonuç $p < 0,05$ düzeyinde anlamlılık taşımaktadır. Tomiita ve ark.'nın araştırmasında aktif astımlı ve remisyon dönemindeki hasta grubu ile kontrol

grubu karşılaştırıldığında IL-5 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur (Min and Chang 2012). Zhu ve ark.'nın remisyon dönemindeki çocuk astım hastalarında IL-5 düzeyleri tedavi sonrası istatistiksel olarak anlamlı düşüş göstermiştir (H. H. Zhu et al. 2005). Bu sonuç araştırmamızda herhangi bir tedavi görmeyen remisyon dönemindeki çocuk astım hastalarının serum IL-5 düzeylerinin arttığına dair sonucu destekler niteliktedir.

Serum IL-4 düzeyleri hasta grubunda ortalama 4.92 ± 9.27 pg/ μ L kontrol grubunda ortalama 1.15 ± 1.11 pg/ μ L olarak belirlenmiştir. Bu sonuçlar arasındaki fark istatistiksel olarak anlam ifade etmemektedir. Lin ve ark. araştırmalarında 3 farklı tedavi grubu üzerinde IL-4 seviyelerini ölçtüklerinde tedavi öncesinde istatistiksel anlam bulunmadığını, IL-4 seviyeleri arasında tedavi sonrasında gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark oluştuğunu belirtmiştir (Lin, Wang, and Luo 2011). Li ve ark. araştırmalarında ise, kontrol grubu olarak remisyon dönemi astım hastaları seçilmiş ve iki farklı tedavi stratejisinin uygulandığı 3 farklı gruba çalışılmıştır. Uyguladıkları tedavi sonrasında tedavi gruplarında IL-4 düzeyinin istatistiksel anlamlı düştüğünü göstermişlerdir (Y. L. Li et al. 2004).

Serum IL-6 düzeyini hasta grubunda ortalama 1.56 ± 2.81 pg/ μ L, kontrol grubunda ortalama 0.69 ± 0.39 pg/ μ L olarak bulunmuştur. Gruplar arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıdır. Cui ve ark. araştırmalarında hem akut hem de remisyon dönemi çocuk astım hastalarının bulunduğu gruplarla çalışılmış ve serum IL-6 düzeyi açısından sadece kontrol grubu ile akut dönem hasta grubu arasında istatistiksel bir fark bulunduğu belirtilmiştir (Cui et al. 2014).

Serum IL-33 düzeyleri açısından remisyon dönemindeki çocuk astım hastaları (ortalama 23.52 ± 46.41 pg/ μ L) ile kontrol grubu sağlıklı çocuklar (ortalama 9.23 ± 10.11 pg/ μ L) arasında ortaya çıkan fark istatistiksel olarak anlam taşımamaktadır. Literatürde remisyon dönemi çocuk astım hastalarına yönelik IL-33'ün serum düzeyinin belirlendiği bir çalışma bulunmamaktadır. Yalnızca fungal duyarlılığa sahip çocuklarda astımın şiddetli atak döneminde akciğer hava yolunda IL-33 düzeyinde artış gösterilmiştir (Castanhinha et al. 2015). Ayrıca deneysel araştırmalarda ve yetişkin bireylerle yapılan araştırmalarda IL-33'ün astımın alerjene maruz kalındıktan hemen sonra gelişen immün cevap sırasında akciğer hava yolunda artış gösterdiği ve bu artışın tip-2 immün yanıt oluşturduğu, akciğer hava yolunda

mast hücrelerinin aktivasyonunu ve bronkokonstrüksiyonu sağladığı bazı araştırmalar sonucunda görülmüştür (Nechama et al. 2018), (T. Liu et al. 2015), (Lai et al. 2014). Bu sonuçlar IL-33'ün akciğer hava yolu epitelyumunda belirli alerjenlere maruz kalındığında oluşup immün sistemi tip-2 immün yanıtı ile aktive etme etkisi gösterdiğini anlamamızı sağlamaktadır. Nitekim araştırmamıza göre nazal sıvı IL-33 seviyelerinde remisyon dönemindeki çocuk hasta grubu verilerinin (146.23 ± 160.85 pg/ μ L), sağlıklı kontrol grubundan elde edilen nazal sıvı IL-33 verilerine (27.56 ± 30.83 pg/ μ L) göre istatistiksel olarak da anlamlı ($p<0,05$) oldukça yüksek bulunduğunu görmekteyiz. IL-33'ün bu verilere göre remisyon dönemi astım hastalarında bir biyobelirteç olarak değerlendirilmesine yönelik araştırmaların serum seviyelerinden ziyade nazal sıvı seviyelerine odaklanılmasının hem araştırmamızın sonuçlarından hem de literatüre dayalı bilgilerden yola çıkılarak faydalı olacağı görüşündeyiz. Alerjik yanıt ile ilgili yapılan başka bir araştırmada da tip-2 immün yanıt oluşumunda salgısı artan IL-4, IL-5, IL-13 sitokinlerinin beraberinde nazal sıvı örneğinde bulunan IL-33 mRNA düzeyinin artışı (Leaker et al. 2017) bu görüşümüzü destekler niteliktedir.

Astım hastası bireylerde hava yollarında Th2 sitokinlerinin hepsinin yüksek düzeyde bulunduğu gösterilmiştir. Bronş biyopsileri ve balgamda IL-4, IL-5, IL-13 ve bunların reseptörlerine ait mRNA ve protein ekspresyon düzeylerinde artış görülmektedir (Mullane 2011). Alerjik astımda IL-4 ve IL-13'ün hava yolu inflamasyonuna katkıda bulunarak hava yolu epitel bariyerini engellediği bulunmuştur (Saatian et al. 2013).

Tip-2 immün yanıtta arttığı bilinen IL-13, araştırmamızda da remisyon dönemindeki astım hastası çocuklarda serumda (ortalama 178.31 ± 174.16 pg/ μ L) sağlıklı kontrol grubu çocuklarının serum düzeylerine göre (ortalama 84.36 ± 42.62 pg/ μ L) istatistiksel olarak daha yüksek ($p<0,05$) bulunmuştur. Araştırmamızdan elde edilen bu veri literatürde remisyon dönemindeki astım hastası çocuklarda daha önce araştırılmamış bir parametre olması açısından önem taşımaktadır. Literatürde alerjen maruziyetine bırakılan çocuk hastalarda astım şiddetinin artması sonucu IL-13 düzeylerinin serumda artış gösterdiği çeşitli araştırmalarla desteklenmektedir (Castanhinha et al. 2015), (Eifan et al. 2010), (Chen et al. 2009), (Karaman et al. 2007), (Rolinck-Werninghaus et al. 2005). Diğer bir araştırmada ise IL-13 düzeyinin çocuk astım hastalarında,, tedavi edilen gruba, tedavi edilmeyen grup arasında

serum düzeylerinde bir fark oluşmadığı gösterilmiş olsa da istatistiksel analiz yapılabilecek yeterli sayıda katılımcı bulunmadığı belirtilmiştir (A. M. Li et al. 2009). Araştırmamızda IL-13'ün nazal sıvıdaki düzeyleri hasta grubu (ortalama 364.02 ± 331.23 pg/ μ L) ile sağlıklı kontrol grubu (ortalama 282.54 ± 154.33 pg/ μ L) arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Literatürde nazal sıvıdaki IL-13 sitokininin düzeylerini belirlemek için herhangi bir araştırma yapılmadığı görülmüştür.

Serum GM-CSF düzeyleri araştırmamızda remisyon dönemi çocuk astım hastalarında ortalama 2.67 ± 5.46 pg/ μ L, sağlıklı kontrol grubunda ortalama 0.67 ± 0.31 pg/ μ L bulunmuştur. Fakat aradaki bu fark istatistiksel olarak bir anlam ifade etmemektedir. Fonseca-Aten ve ark. astım atağı gelişen çocuk hastalardaki araştırmalarında bu parametrenin hasta grubunda yüksek olduğunu bildirmiştir. Klaritromisin tedavisi uygulandığında bu faktörün seviyesinde anlamlı bir düşüş de gözlenmiştir (Fonseca-Aten et al. 2006). Kato ve ark. araştırmalarında ise virüs ile indüklenen astım atağı sonucunda serum GM-CSF düzeylerinin kontrol grubundakilerle farklı olmadığını göstermişlerdir (M. Kato et al. 2011). GM-CSF serum düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmamasının nedenini, atak oluşumuna neden olan alerjen maruziyetinden sonra bronşiyal epitel hücrelerinde GM-CSF ekspresyonunun artması (Papadopoulos et al. 2001) ile ilişkilendirebiliriz. Literatürde remisyon dönemi çocuk astım hastalarının çalışma grubu olarak belirlendiği bir araştırma sonucu bulunmamaktadır. Araştırmamızda, nazal sıvıdaki GM-CSF düzeyleri gruplar arasında karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı bir fark göze çarpmamaktadır. Öyle ki remisyon dönemindeki çocuk astım hastalarında nazal sıvı GM-CSF düzeyi ortalama 2.33 ± 0.79 pg/ μ L iken, sağlıklı kontrol grubunda ortalama düzey 2.37 ± 1.23 pg/ μ L'dir. Nazal lavaj sıvısında GM-CSF düzeyinin belirlendiği bir araştırmada endotoksin aracılığı ile indüklenen alerjen yanıt sonucunda yani atak geliştirildiğinde kontrol grubu ile hasta grubu arasında bu faktör açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmadığı gösterilmiştir (Eldridge and Peden 2000). Tüm bu veriler ve araştırmamızın sonuçları göz önünde bulundurulduğunda serumda ve nazal sıvıda GM-CSF'nin astımın hem remisyon hem de akut döneminde bir biyobelirteç olarak değerlendirilemeyeceği sonucuna varmamıza neden olmaktadır. Yine de bu faktör ile ilgili yapılan araştırmaların sayısı oldukça az olduğu için, araştırma gruplarına daha yüksek katılımın sağlandığı, daha güçlü istatistik raporlarına sahip, daha spesifik araştırmalara ihtiyaç vardır.

Araştırmamızda biyobelirteç olarak değerlendirilmesinin önemi olduğunu düşündüğümüz TSLP parametresinin, serum düzeyleri remisyon dönemi astım hastası grubunda ortalama 1.07 ± 1.29 pg/ μ L, sağlıklı kontrol grubunda 0.52 ± 0.32 pg/ μ L olarak bulunmuştur. Gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak $p < 0,05$ düzeyinde anlam taşımaktadır. Bu sonuç literatürde TSLP parametresinin oldukça kısıtlı araştırma sonucuna sahip olması açısından önem arz etmektedir. Iyengar ve ark. plazma TSLP düzeylerini atopik dermatit grubu çocuklarda yüksek bulmuşlardır (Iyengar et al. 2013). Bu hastalık da alerjik astım gibi alerjen indüklemesi sonucunda ortaya çıkmaktadır (Dharmage et al. 2014). Lee ve ark. ise atopik dermatitli çocuk hastalardaki araştırmalarında serum TSLP düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulmamıştır.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Araştırmamızın bulguları sonucunda,

Astım hastalığının izleminde serumda bulunan sitokinlerin düzeylerinin tespit edilmesi sağlanmış ve literatürdeki verilerle karşılaştırma olanağı bulunmuştur.

Serumdaki sitokinlerin hasta grubunda artışı sonucunda bu sitokinlerin artışı ile ilişkili olarak nazal sıvı örneğinde bulunan sitokinlerin de artış gösterdiği ve bu değişikliklerin bazı sitokinler arasında korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir.

Th2 tipi immün yanıtın sitokinleri olan IL-4, IL-5 ve IL-13'ün remisyon döneminde de astım hastalarında serum düzeylerinde yükselme olduğu farkedilmiştir. Bu veri hastalığın takibi açısından umut vaad eder niteliktedir.

Nazal sıvı örneklerinde astım hastalığının remisyon döneminde de artmış düzeylerde bulunan sitokinler invaziv olmayan nazal sıvı alma işlemi ile özellikle çocuk astım hastalarının tanı, izlem ve tedavi süreçlerinde büyük kolaylık sağlayabilme kapasitesindedir. Hipotezimizin ne kadar güçlü olduğu buradan ortaya çıkmaktadır.

Araştırmamızın sonuçları biyobelirteç olarak değerlendirilebilecek sitokinlerin belirlenmesi açısından oldukça büyük önem taşımaktadır. Bu açıdan literatüre sağladığı bulgular oldukça faydalıdır.

Araştırmamızın sonucunda değerlendirilen her bir sitokin molekülü üzerine yapılacak araştırmalar için bu tez çalışması baş kaynak niteliği taşıma potansiyeline sahiptir.

Bulgularımızın bilimsel olarak desteklenebilirliğinin artırılması için, mutlaka akut ve remisyon dönemlerindeki hasta gruplarının her bir sitokin açısından karşılaştırıldığı, daha güçlü istatistik verilerin elde edilmesi açısından daha fazla katılımcının sağlandığı araştırmaların gerçekleştirilmesinde fayda görüyoruz.

7. KAYNAKLAR

- Adcock, Ian M., and S. J. Lane. 2003. "Corticosteroid-Insensitive Asthma: Molecular Mechanisms." *Journal of Endocrinology*.
- Aggarwal, Ankita, and Devendra K. Agrawal. 2014. "Importins and Exportins Regulating Allergic Immune Responses." *Mediators of Inflammation*.
- Agrawal, Dk, and Z Shao. 2010. "Pathogenesis of Allergic Airway Inflammation." *Current allergy and asthma reports*.
- Akerman, Michael J H, Catherine M. Calacanis, and Mary K. Madsen. 2004. "Relationship between Asthma Severity and Obesity." *Journal of Asthma*.
- Alkhouri, H. et al. 2014. "Human Lung Mast Cell Products Regulate Airway Smooth Muscle CXCL10 Levels." *Journal of Allergy*.
- Amin, Kawa. 2012. "The Role of Mast Cells in Allergic Inflammation." *Respiratory Medicine*.
- Andersson, M. et al. 2013. "Remission and Persistence of Asthma Followed From 7 to 19 Years of Age." *PEDIATRICS*.
- Arima, Masafumi, and Takeshi Fukuda. 2011. "Prostaglandin D2 and TH2 Inflammation in the Pathogenesis of Bronchial Asthma." *Korean Journal of Internal Medicine*.
- Bajoriuniene, Ieva et al. 2013. "Th17 Response to Dermatophagoides Pteronyssinus Is Related to Late-Phase Airway and Systemic Inflammation in Allergic Asthma." *International Immunopharmacology*.
- Bandeira-Melo, Christianne, Patricia T. Bozza, and Peter F. Weller. 2002. "The Cellular Biology of Eosinophil Eicosanoid Formation and Function." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Barnes, Peter J. 2012. "Severe Asthma: Advances in Current Management and Future Therapy." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.

- Bertram, Cornelia et al. 2007. "Comparison of Kinin B1 and B2 receptor Expression in Neutrophils of Asthmatic and Non-Asthmatic Subjects." *International Immunopharmacology*.
- Bharadwaj, Arpita S, Againdra K Bewtra, and Devendra K Agrawal. 2007. "Dendritic Cells in Allergic Airway Inflammation." *Canadian journal of physiology and pharmacology*.
- Bilenki, Laura et al. 2004. "Natural Killer T Cells Contribute to Airway Eosinophilic Inflammation Induced by Ragweed through Enhanced IL-4 and Eotaxin Production." *European Journal of Immunology*.
- Bloemen, Karolien et al. 2007. "The Allergic Cascade: Review of the Most Important Molecules in the Asthmatic Lung." *Immunology Letters*.
- Blume, Cornelia, and Donna E. Davies. 2013. "In Vitro and Ex Vivo Models of Human Asthma." *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*.
- Bogaert, Pieter et al. 2011. "Inflammatory Signatures for Eosinophilic vs. Neutrophilic Allergic Pulmonary Inflammation Reveal Critical Regulatory Checkpoints." *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*.
- Bossé, Y., J. Stankova, and M. Rola-Pleszczynski. 2010. "Transforming Growth Factor-B1 in Asthmatic Airway Smooth Muscle Enlargement: Is Fibroblast Growth Factor-2 Required?" *Clinical and Experimental Allergy*.
- Boyce, Joshua A., and K. Frank Austen. 2005. "No Audible Wheezing: Nuggets and Conundrums from Mouse Asthma Models." *The Journal of Experimental Medicine*.
- Brandt, Eric B et al. 2008. "Surfactant Protein D Alters Allergic Lung Responses in Mice and Human Subjects." *The Journal of allergy and clinical immunology*.
- Von Bredow, Christina et al. 2006. "Surfactant Protein D Regulates Chemotaxis and Degranulation of Human Eosinophils." *Clinical and Experimental Allergy*.

- Brightling, C E, S Saha, and F Hollins. 2010. "Interleukin-13: Prospects for New Treatments." *Clinical & Experimental Allergy*.
- Bryce, Paul J. et al. 2006. "The H1 Histamine Receptor Regulates Allergic Lung Responses." *Journal of Clinical Investigation*.
- Burton, Oliver T., and Hans C. Oettgen. 2011. "Beyond Immediate Hypersensitivity: Evolving Roles for IgE Antibodies in Immune Homeostasis and Allergic Diseases." *Immunological Reviews*.
- Busse, WW, and RF Lemanske Jr. 2001. "Advances in Immunology: Asthma." *New England Journal of Medicine-Unbound Volume*.
- Castanhinha, Susana et al. 2015. "Pediatric Severe Asthma with Fungal Sensitization Is Mediated by Steroid-Resistant IL-33." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Chang, Ya-Jen, Rosemarie H DeKruyff, and Dale T Umetsu. 2013. "The Role of Type 2 Innate Lymphoid Cells in Asthma." *Journal of leukocyte biology*.
- Chaudhuri, R. et al. 2014. "Effects of a FLAP Inhibitor, GSK2190915, in Asthmatics with High Sputum Neutrophils." *Pulmonary Pharmacology and Therapeutics*.
- Chen, Zhuang Gui et al. 2009. "Effects of Dermatophagoides Pteronyssinus Allergen-Specific Immunotherapy on the Serum Interleukin-13 and Pulmonary Functions in Asthmatic Children." *Chinese Medical Journal*.
- Cookson, William, Miriam Moffatt, and David P. Strachan. 2011. "Genetic Risks and Childhood-Onset Asthma." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Corren, Jonathan. 2013. "Role of Interleukin-13 in Asthma." *Current Allergy and Asthma Reports*.
- Cosmi, L. et al. 2011. "Th17 Cells: New Players in Asthma Pathogenesis." *Allergy*.

- Cui, Ya Jie et al. 2014. "Alterations of CD4+CXCR5+Tfh Cells and Its Transcription Regulatory Factors in Children with Asthma." *Chinese Journal of Contemporary Pediatrics*.
- Davies, J. M., and R. E. O'Hehir. 2008. "Immunogenetic Characteristics of Immunoglobulin E in Allergic Disease." *Clinical and Experimental Allergy*.
- Deckers, Julie, Filipe Branco Madeira, and Hamida Hammad. 2013. "Innate Immune Cells in Asthma." *Trends in Immunology*.
- Dharmage, S. C. et al. 2014. "Atopic Dermatitis and the Atopic March Revisited." *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Douwes, J., P. Gibson, J. Pekkanen, and N. Pearce. 2002. "Non-Eosinophilic Asthma: Importance and Possible Mechanisms." *Thorax*.
- Dua, B et al. 2014. "Myeloid Dendritic Cells Type 2 after Allergen Inhalation in Asthmatic Subjects." *Clinical and experimental allergy: journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology*.
- Dunford, Paul J et al. 2006. "The Histamine H4 Receptor Mediates Allergic Airway Inflammation by Regulating the Activation of CD4+ T Cells." *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*.
- Eifan, A. O. et al. 2010. "Clinical Efficacy and Immunological Mechanisms of Sublingual and Subcutaneous Immunotherapy in Asthmatic/Rhinitis Children Sensitized to House Dust Mite: An Open Randomized Controlled Trial." *Clinical and Experimental Allergy*.
- Eldridge, Marlowe W., and David B. Peden. 2000. "Allergen Provocation Augments Endotoxin-Induced Nasal Inflammation in Subjects with Atopic Asthma." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Elias, Jack A. et al. 2003. "New Insights into the Pathogenesis of Asthma." *Journal of Clinical Investigation*.
- Erpenbeck, Veit J. et al. 2003. "Segmental Allergen Challenge in Patients with Atopic Asthma Leads to Increased IL-9 Expression in Bronchoalveolar Lavage Fluid Lymphocytes." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.

- Fahy, J. V. 2009. "Eosinophilic and Neutrophilic Inflammation in Asthma: Insights from Clinical Studies." *Proceedings of the American Thoracic Society*.
- Fajt, Merritt L., and Sally E. Wenzel. 2015. "Asthma Phenotypes and the Use of Biologic Medications in Asthma and Allergic Disease: The next Steps toward Personalized Care." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Fawaz, Lama M. et al. 2007. "Expression of IL-9 Receptor α Chain on Human Germinal Center B Cells Modulates IgE Secretion." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Finkelman, Fred D. et al. 2010. "Importance of Cytokines in Murine Allergic Airway Disease and Human Asthma." *The Journal of Immunology*.
- Fogli, L. K. et al. 2013. "T Cell-Derived IL-17 Mediates Epithelial Changes in the Airway and Drives Pulmonary Neutrophilia." *The Journal of Immunology*.
- Fonseca-Aten, Monica et al. 2006. "Effect of Clarithromycin on Cytokines and Chemokines in Children with an Acute Exacerbation of Recurrent Wheezing: A Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Trial." *Annals of Allergy, Asthma and Immunology*.
- Fuchs, Oliver et al. 2012. "Farming Environments and Childhood Atopy, Wheeze, Lung Function, and Exhaled Nitric Oxide." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Galli, Stephen J., and Mindy Tsai. 2012. "IgE and Mast Cells in Allergic Disease." *Nature Medicine*.
- Gaurav, Rohit, and Devendra K. Agrawal. 2013. "Clinical View on the Importance of Dendritic Cells in Asthma." *Expert Review of Clinical Immunology*.
- Gershon, Andrea et al. 2012. "The Course of Asthma Activity: A Population Study." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Global Initiative For Asthma (GINA). 2017. "Global Strategy For Asthma Management and Prevention." *Global Initiative for Asthma*.

- Gough, Hannah et al. 2015. "Allergic Multimorbidity of Asthma, Rhinitis and Eczema over 20 Years in the German Birth Cohort MAS." *Pediatric Allergy and Immunology*.
- Gould, Hannah J., and Brian J. Sutton. 2008. "IgE in Allergy and Asthma Today." *Nature Reviews Immunology*.
- Gouvis-Echraghi, Rahel   et al. 2012. "Exhaled Nitric Oxide Measurement Confirms 2 Severe Wheeze Phenotypes in Young Children from the Trousseau Asthma Program." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Grabenhenrich, Linus B. et al. 2014. "Early-Life Determinants of Asthma from Birth to Age 20 Years: A German Birth Cohort Study." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Greenfeder, Scott et al. 2001. "Th2 Cytokines and Asthma. The Role of Interleukin-5 in Allergic Eosinophilic Disease." *Respiratory Research*.
- Griese, M. et al. 2008. "Children with Absent Surfactant Protein D in Bronchoalveolar Lavage Have More Frequently Pneumonia." *Pediatric Allergy and Immunology*.
- Hall, Sannette, and Devendra K. Agrawal. 2014. "Key Mediators in the Immunopathogenesis of Allergic Asthma." *International Immunopharmacology*.
- Hallstrand, Teal S., and William R. Henderson. 2010. "An Update on the Role of Leukotrienes in Asthma." *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*.
- Han, Hongwei et al. 2013. "Thymic Stromal Lymphopoietin Amplifies the Differentiation of Alternatively Activated Macrophages." *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*.
- Han, Jiang-yu, and Jian-ping Cui. 2011. "[Effect of Biantong Huangqi Ointment Combined with Western Medicine on the Recurrence of Children's Bronchial Asthma]." *Zhongguo Zhong xi yi jie he za zhi Zhongguo Zhongxiyi jiehe zazhi = Chinese journal of integrated traditional and*

Western medicine / Zhongguo Zhong xi yi jie he xue hui, Zhongguo Zhong yi yan jiu yuan zhu ban.

- Hardy, Charles L. et al. 2010. "Interleukin-13 Regulates Secretion of the Tumor Growth Factor - β Superfamily Cytokine Activin A in Allergic Airway Inflammation." *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*.
- Hawkins, Gregory A. et al. 2012. "The IL6R Variation Asp358Ala Is a Potential Modifier of Lung Function in Subjects with Asthma." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Hekking, Pieter Paul W. et al. 2015. "The Prevalence of Severe Refractory Asthma." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- van Helden, Mary J., and Bart N. Lambrecht. 2013. "Dendritic Cells in Asthma." *Current Opinion in Immunology*.
- Hepworth, Matthew R., and Gregory F. Sonnenberg. 2014. "Regulation of the Adaptive Immune System by Innate Lymphoid Cells." *Current Opinion in Immunology*.
- Hofmann, Alison M, and Soman N Abraham. 2010. "New Roles for Mast Cells in Pathogen Defense and Allergic Disease." *Discovery medicine*.
- Holgate, Stephen T. 1999. "Genetic and Environmental Interaction in Allergy and Asthma." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Hsia, B.J. et al. 2012. "Mast Cell TNF Receptors Regulate Responses to Mycoplasma Pneumoniae in Surfactant Protein A (SP-A) ^{-/-} Mice." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Ingram, Jennifer L., and Monica Kraft. 2012. "IL-13 in Asthma and Allergic Disease: Asthma Phenotypes and Targeted Therapies." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Ishmael, Faoud T. 2011. "The Inflammatory Response in the Pathogenesis of Asthma." *The Journal of the American Osteopathic Association*.

- Iyengar, Shuba Rajashri et al. 2013. "Immunologic Effects of Omalizumab in Children with Severe Refractory Atopic Dermatitis: A Randomized, Placebo-Controlled Clinical Trial." *International Archives of Allergy and Immunology*.
- Jeffery, P. K. et al. 1989. "Bronchial Biopsies in Asthma: An Ultrastructural, Quantitative Study and Correlation with Hyperreactivity." *American Review of Respiratory Disease*.
- Ji, Hong, and Gurjit K. Khurana Hershey. 2012. "Genetic and Epigenetic Influence on the Response to Environmental Particulate Matter." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Jia, Guiquan et al. 2012. "Periostin Is a Systemic Biomarker of Eosinophilic Airway Inflammation in Asthmatic Patients." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Jiang, Yongfeng et al. 2007. "CysLT2 Receptors Interact with CysLT1 Receptors and Down-Modulate Cysteinyl Leukotriene Dependent Mitogenic Responses of Mast Cells." *Blood*.
- Jones, Carla P. et al. 2012. "Activin A and TGF- β Promote T H9 Cell-Mediated Pulmonary Allergic Pathology." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Jutel, Marek, Kurt Blaser, and Cezmi A. Akdis. 2005. "Histamine in Allergic Inflammation and Immune Modulation." *International Archives of Allergy and Immunology*.
- Kabashima, Kenji, and Shuh Narumiya. 2003. "The DP Receptor, Allergic Inflammation and Asthma." *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*.
- Kaplan, Mark H. 2013. "Th9 Cells: Differentiation and Disease." *Immunological Reviews*.

- Karagiannidis, Christian et al. 2006. "Activin A Is an Acute Allergen-Responsive Cytokine and Provides a Link to TGF- β -Mediated Airway Remodeling in Asthma." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Karaman, Ozkan et al. 2007. "The Effectiveness of Asthma Therapy Alternatives and Evaluating the Effectivity of Asthma Therapy by Interleukin-13 and Interferon Gamma Levels in Children." *Allergy and Asthma Proceedings*.
- Kariyawasam, H. H., M. Semitekolou, D. S. Robinson, and G. Xanthou. 2011. "Activin-A: A Novel Critical Regulator of Allergic Asthma." *Clinical and Experimental Allergy*.
- Kashiwakura, J, I M Otani, and T Kawakami. 2011. "Monomeric IgE and Mast Cell Development, Survival and Function." *Adv Exp Med Biol*.
- Kato, Atsushi et al. 2009. "Local Release of B Cell-Activating Factor of the TNF Family after Segmental Allergen Challenge of Allergic Subjects." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Kato, Masahiko, Yoshiyuki Yamada, Kenichi Maruyama, and Yasuhide Hayashi. 2011. "Differential Effects of Corticosteroids on Serum Eosinophil Cationic Protein and Cytokine Production in Rhinovirus- and Respiratory Syncytial Virus-Induced Acute Exacerbation of Childhood Asthma." In *International Archives of Allergy and Immunology*,.
- Kawakami, Toshiaki, Jun Ichi Kashiwakura, and Yuko Kawakami. 2014. "Histamine-Releasing Factor and Immunoglobulins in Asthma and Allergy." *Allergy, Asthma and Immunology Research*.
- Khaitov, Musa R et al. 2014. "Small Interfering RNAs Targeted to Interleukin-4 and Respiratory Syncytial Virus Reduce Airway Inflammation in a Mouse Model of Virus-Induced Asthma Exacerbation." *Human gene therapy*.
- Kim, B-S et al. 2018. "Different Functional Genes of Upper Airway Microbiome Associated with Natural Course of Childhood Asthma." *Allergy*.
- King, T E. 1999. "A New Look at the Pathophysiology of Asthma." *Journal of the National Medical Association*.

- Kips, J C. 2001. "Cytokines in Asthma." *European Respiratory Journal* 18(34 suppl): 24s LP-33s.
http://erj.ersjournals.com/content/18/34_suppl/24s.abstract.
- Lai, Ying et al. 2014. "Increased Density of Intraepithelial Mast Cells in Patients with Exercise-Induced Bronchoconstriction Regulated through Epithelially Derived Thymic Stromal Lymphopoietin and IL-33." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Lambrecht, Bart N., and Hamida Hammad. 2013. "Asthma: The Importance of Dysregulated Barrier Immunity." *European Journal of Immunology*.
- Lau, Susanne et al. 2000. "Early Exposure to House-Dust Mite and Cat Allergens and Development of Childhood Asthma: A Cohort Study." *Lancet*.
- Leaker, B. R. et al. 2017. "The Nasal Mucosal Late Allergic Reaction to Grass Pollen Involves Type 2 Inflammation (IL-5 and IL-13), the Inflammasome (IL-1 β), and Complement." *Mucosal Immunology*.
- Ledford, Julie G. et al. 2012. "Surfactant Protein-a Suppresses Eosinophil-Mediated Killing of Mycoplasma Pneumoniae in Allergic Lungs." *PLoS ONE*.
- Li, Albert M. et al. 2009. "Leukotriene Receptor Antagonist in the Treatment of Childhood Allergic Rhinitis - A Randomized Placebo-Controlled Study." *Pediatric Pulmonology*.
- Li, Kaiyan et al. 2013. "The Study of the Ratio and Distribution of Th17 Cells and Tc17 Cells in Asthmatic Patients and the Mouse Model." *Asian Pacific Journal of Allergy and Immunology*.
- Li, Y L, F Luo, J Y Zhang, and C Liu. 2004. "[Clinical Study on Effect of Acupoint Sticking of Chuanfuling in Dog-Days in Preventing and Treating Children Asthma in Remission Stage]." *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*.
- Lin, Ying, Bo Wang, and Xian-qiong Luo. 2011. "[Clinical Study of Astragalus's Preventing the Recurrence of Asthma in Children]." *Zhongguo Zhong xi yi jie he za zhi Zhongguo Zhongxiyi jiehe zazhi = Chinese journal of integrated traditional and Western medicine*.

- Liu, S. M., and C. King. 2013. "IL-21-Producing Th Cells in Immunity and Autoimmunity." *The Journal of Immunology*.
- Liu, Tao et al. 2015. "Aspirin-Exacerbated Respiratory Disease Involves a Cysteinyl Leukotriene-Driven IL-33-Mediated Mast Cell Activation Pathway." *The Journal of Immunology*.
- Lloyd, Clare M. 2010. "IL-33 Family Members and Asthma - Bridging Innate and Adaptive Immune Responses." *Current Opinion in Immunology*.
- Louis, R., and R. Djukanovic. 2006. "Is the Neutrophil a Worthy Target in Severe Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease?" *Clinical and Experimental Allergy*.
- MacGlashan, Donald. 2003. "Histamine: A Mediator of Inflammation." In *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Mackay, Fabienne, and Jeffrey L Browning. 2002. "BAFF: A Fundamental Survival Factor for B Cells." *Nat. Rev. Immunol.*
- Maier, Elisabeth, Albert Duschl, and Jutta Horejs-Hoeck. 2012. "STAT6-Dependent and -Independent Mechanisms in Th2 Polarization." *European Journal of Immunology*.
- Makinde, Toluwalope, Richard F. Murphy, and Devendra K. Agrawal. 2007. "The Regulatory Role of TGF- β in Airway Remodeling in Asthma." *Immunology and Cell Biology*.
- Mathew, A et al. 2001. "Signal Transducer and Activator of Transcription 6 Controls Chemokine Production and T Helper Cell Type 2 Cell Trafficking in Allergic Pulmonary Inflammation." *The Journal of experimental medicine*.
- Matthews, Nick C. et al. 2014. "Urban Particulate Matter Suppresses Priming of T Helper Type 1 Cells by Granulocyte/Macrophage Colony-Stimulating Factor-Activated Human Dendritic Cells." *American journal of respiratory cell and molecular biology*.
- McGee, Halvor S. et al. 2010. "Fms-like Tyrosine Kinase 3 Ligand Decreases T Helper Type 17 Cells and Suppressors of Cytokine Signaling Proteins in the

- Lung of House Dust Mite-Sensitized and -Challenged Mice.” *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*.
- McGee, Halvor S., and Devendra K. Agrawal. 2006. “TH2 Cells in the Pathogenesis of Airway Remodeling: Regulatory T Cells a Plausible Panacea for Asthma.” *Immunologic Research*.
- Min, Kyung-up, and Yoon-seok Chang. 2012. “Asia Pacific Allergy Environment.” : 161–64.
- Montaldo, Elisa, Paola Vacca, Lorenzo Moretta, and Maria Cristina Mingari. 2014. “Development of Human Natural Killer Cells and Other Innate Lymphoid Cells.” *Seminars in Immunology*.
- Monteseirín, Javier. 2009. “Neutrophils and Asthma.” *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*.
- Mullane, Kevin. 2011. “Asthma Translational Medicine: Report Card.” *Biochemical Pharmacology*.
- Murdoch, Jenna R., and Clare M. Lloyd. 2010. “Chronic Inflammation and Asthma.” *Mutation research*.
- Nabe, Takeshi et al. 2011. “Important Role of Neutrophils in the Late Asthmatic Response in Mice.” *Life Sciences*.
- Nadi, E., M. Arjipour, S. Sharifi, and A. Zamani. 2014. “Assay of IL-22 and IL-25 in Serum, Whole Blood, and Peripheral Blood Mononuclear Cell Cultures of Patients with Severe Asthma.” *Allergologia et Immunopathologia*.
- Nair, Parameswaran, and Monica Kraft. 2012. “Serum Periostin as a Marker of T H2-Dependent Eosinophilic Airway Inflammation.” *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Nakagome, Kazuyuki, Sho Matsushita, and Makoto Nagata. 2012. “Neutrophilic Inflammation in Severe Asthma.” In *International Archives of Allergy and Immunology*,.

- Nechama, Morris et al. 2018. "The IL-33-PIN1-IRAK-M Axis Is Critical for Type 2 Immunity in IL-33-Induced Allergic Airway Inflammation." *Nature Communications*.
- Nembrini, Chiara, Benjamin J. Marsland, and Manfred Kopf. 2009. "IL-17-Producing T Cells in Lung Immunity and Inflammation." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Neumann, Detlef, Silke Beermann, and Roland Seifert. 2010. "Does the Histamine H4 Receptor Have a Pro- or Anti-Inflammatory Role in Murine Bronchial Asthma?" *Pharmacology*.
- O'Byrne, Paul M. 2011. "Therapeutic Strategies to Reduce Asthma Exacerbations." *The Journal of allergy and clinical immunology*.
- Ober, Carole. 2005. "Perspectives on the Past Decade of Asthma Genetics." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Oh, Keunhee, Tao Shen, Graham Le Gros, and Booki Min. 2007. "Induction of Th2 Type Immunity in a Mouse System Reveals a Novel Immunoregulatory Role of Basophils." *Blood*.
- Papadopoulos, Nikolaos G. et al. 2001. "Rhinovirus Infection Up-Regulates Eotaxin and Eotaxin-2 Expression in Bronchial Epithelial Cells." *Clinical and Experimental Allergy*.
- Patelis, Antonios et al. 2012. "Population-Based Study of Multiplexed IgE Sensitization in Relation to Asthma, Exhaled Nitric Oxide, and Bronchial Responsiveness." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Pennino, Davide et al. 2013. "IL-22 Suppresses IFN- γ -Mediated Lung Inflammation in Asthmatic Patients." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Platts-Mills, T. A E. 2001. "The Role of Immunoglobulin E in Allergy and Asthma." *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*.
- Posa, Daniela et al. 2017. "Evolution and Predictive Value of IgE Responses toward a Comprehensive Panel of House Dust Mite Allergens during the First 2 Decades of Life." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.

- Qaseem, Asif S. et al. 2013. "Linking Surfactant Protein SP-D and IL-13: Implications in Asthma and Allergy." *Molecular Immunology*.
- Rayees, Sheikh, Fayaz Malik, Syed Imran Bukhari, and Gurdarshan Singh. 2014. "Linking GATA-3 and Interleukin-13: Implications in Asthma." *Inflammation Research*.
- Redhu, Naresh Singh, Lianyu Shan, Hesam Movassagh, and Abdelilah S. Gounni. 2013. "Thymic Stromal Lymphopoietin Induces Migration in Human Airway Smooth Muscle Cells." *Scientific Reports*.
- Robinson, Douglas S. 2010. "The Role of the T Cell in Asthma." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Rolinck-Werninghaus, C. et al. 2005. "Lack of Detectable Alterations in Immune Responses during Sublingual Immunotherapy in Children with Seasonal Allergic Rhinoconjunctivitis to Grass Pollen." *International Archives of Allergy and Immunology*.
- Ruffin, Charnelda G., and Benita E. Busch. 2004. "Omalizumab: A Recombinant Humanized Anti-IgE Antibody for Allergic Asthma." *American Journal of Health-System Pharmacy*.
- Saatian, Bahman et al. 2013. "Interleukin-4 and Interleukin-13 Cause Barrier Dysfunction in Human Airway Epithelial Cells." *Tissue Barriers*.
- Schachter, L. M., C. M. Salome, J. K. Peat, and A. J. Woolcock. 2001. "Obesity Is a Risk for Asthma and Wheeze but Not Airway Hyperresponsiveness." *Thorax*.
- Schatz, Michael, and Robert S. Zeiger. 2011. "Improving Asthma Outcomes in Large Populations." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Schroeder, John T. 2009. "Basophils beyond Effector Cells of Allergic Inflammation." *Advances in immunology*.
- Semitekolou, Maria et al. 2009. "Activin-A Induces Regulatory T Cells That Suppress T Helper Cell Immune Responses and Protect from Allergic Airway Disease." *The Journal of Experimental Medicine*.

- Shao, Zhifei et al. 2009. "Fms-like Tyrosine Kinase 3 Ligand Regulates Migratory Pattern and Antigen Uptake of Lung Dendritic Cell Subsets in a Murine Model of Allergic Airway Inflammation." *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*.
- Shimizu, Hiroki et al. 2013. "Critical Role of Interleukin-5 in the Development of a Mite Antigen-Induced Chronic Bronchial Asthma Model." *Inflammation Research*.
- Singh, R. K., S. Gupta, S. Dastidar, and A. Ray. 2010. "Cysteinyl Leukotrienes and Their Receptors: Molecular and Functional Characteristics." *Pharmacology*.
- Sivakumar, Pallavur V., Donald C. Foster, and Christopher H. Clegg. 2004. "Interleukin-21 Is a T-Helper Cytokine That Regulates Humoral Immunity and Cell-Mediated Anti-Tumour Responses." *Immunology*.
- Smit, Joost J., and Nicholas W. Lukacs. 2006. "A Closer Look at Chemokines and Their Role in Asthmatic Responses." *European Journal of Pharmacology*.
- Sokol, Caroline L., Gregory M. Barton, Andrew G. Farr, and Ruslan Medzhitov. 2008. "A Mechanism for the Initiation of Allergen-Induced T Helper Type 2 Responses." *Nature Immunology*.
- Spits, Hergen et al. 2013. "Innate Lymphoid Cells-a Proposal for Uniform Nomenclature." *Nature Reviews Immunology*.
- Staudt, Valérie et al. 2010. "Interferon-Regulatory Factor 4 Is Essential for the Developmental Program of T Helper 9 Cells." *Immunity*.
- Steinke, John W., and Lary Borish. 2001. "Th2 Cytokines and Asthma. Interleukin-4: Its Role in the Pathogenesis of Asthma, and Targeting It for Asthma Treatment with Interleukin-4 Receptor Antagonists." *Respiratory Research*.
- Stelmach, Iwona et al. 2012. "Comparison of the Long-Term Efficacy of 3- and 5-Year House Dust Mite Allergen Immunotherapy." *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*.
- Stone, Kelly D., Calman Prussin, and Dean D. Metcalfe. 2010. "IgE, Mast Cells, Basophils, and Eosinophils." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.

- Szeffler, Stanley J. 2012. "Advances in Pediatric Asthma in 2011: Moving Forward." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- . 2013. "Advances in Pediatric Asthma in 2012: Moving toward Asthma Prevention." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Takatsu, Kiyoshi, Taku Kouro, and Yoshinori Nagai. 2009. "Interleukin 5 in the Link between the Innate and Acquired Immune Response." *Advances in immunology*.
- Tan, Hui Leng, and Mark Rosenthal. 2013. "IL-17 in Lung Disease: Friend or Foe?" *Thorax*.
- Tanabe, T., T. Shimokawaji, S. Kanoh, and B. K. Rubin. 2014. "IL-33 Stimulates CXCL8/IL-8 Secretion in Goblet Cells but Not Normally Differentiated Airway Cells." *Clinical and Experimental Allergy*.
- Tantisira, Kelan G. et al. 2012. "Genome-Wide Association Identifies the T Gene as a Novel Asthma Pharmacogenetic Locus." *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*.
- Tomlinson, Kate L., Gareth C.G. Davies, Daniel J. Sutton, and Roger T. Palframan. 2010. "Neutralisation of Interleukin-13 in Mice Prevents Airway Pathology Caused by Chronic Exposure to House Dust Mite." *PLoS ONE*.
- Tung, Hui-Ying, Beverly Plunkett, Shau-Ku Huang, and Yufeng Zhou. 2013. "Murine Mast Cells Secrete and Respond to Interleukin-33." *Journal of interferon & cytokine research: the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research*.
- Vijayanand, Pandurangan et al. 2007. "Invariant Natural Killer T Cells in Asthma and Chronic Obstructive Pulmonary Disease." *The New England journal of medicine*.
- Vincent, Fabien B. et al. 2013. "The BAFF/APRIL System: Emerging Functions beyond B Cell Biology and Autoimmunity." *Cytokine and Growth Factor Reviews*.

- Wahn, U et al. 1997. "Indoor Allergen Exposure Is a Risk Factor for Sensitization during the First Three Years of Life." *J Allergy Clin Immunol*.
- Wakashin, Hidefumi et al. 2008. "IL-23 and Th17 Cells Enhance Th2-Cell-Mediated Eosinophilic Airway Inflammation in Mice." *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*.
- Walford, Hannah H, and Taylor A Doherty. 2013. "STAT6 and Lung Inflammation." *JAK-STAT*.
- Walter, D. M. et al. 2001. "Critical Role for IL-13 in the Development of Allergen-Induced Airway Hyperreactivity." *The Journal of Immunology*.
- Wang, H.-B., and P. F. Weller. 2008. "Pivotal Advance: Eosinophils Mediate Early Alum Adjuvant-Elicited B Cell Priming and IgM Production." *Journal of Leukocyte Biology*.
- Wenzel, Sally E. et al. 2000. "Proceedings of the ATS Workshop on Refractory Asthma: Current Understanding, Recommendations, and Unanswered Questions." In *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*.
- . 2006. "Asthma: Defining of the Persistent Adult Phenotypes." *Lancet*.
- West, Erin E., Mohit Kashyap, and Warren J. Leonard. 2012. "TSLP: A Key Regulator of Asthma Pathogenesis." *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*.
- Wills-Karp, Marsha. 2004. "Interleukin-13 in Asthma Pathogenesis." *Immunological Reviews*.
- Wynn, Thomas A. 2009. "Basophils Trump Dendritic Cells as APCs for TH2 Responses." *Nature Immunology*.
- Yang, Ivana V., and David A. Schwartz. 2011. "Epigenetic Control of Gene Expression in the Lung." *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*.

- Yang, Ivana V, and David a Schwartz. 2012. "Epigenetic Mechanisms and the Development of Asthma." *The Journal of allergy and clinical immunology*.
- Yang, Y. C. et al. 2012. "Transforming Growth Factor-Beta1 in Inflammatory Airway Disease: A Key for Understanding Inflammation and Remodeling." *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*.
- Yavuz, Suleyman Tolga et al. 2014. "Development of Rhinitis May Be an Indicator for the Persistence of Childhood Asthma." *International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology*.
- Zhang, Ning, Hai Feng Pan, and Dong Qing Ye. 2011. "Th22 in Inflammatory and Autoimmune Disease: Prospects for Therapeutic Intervention." *Molecular and Cellular Biochemistry*.
- Zhou, Meixia, and Wenjun Ouyang. 2003. "The Function Role of GATA-3 in Th1 and Th2 Differentiation." *Immunologic Research*.
- Zhu, Hui Hua et al. 2005. "Therapeutic Effect of Xincang Decoction on Chronic Airway Inflammation in Children with Bronchial Asthma in Remission Stage." *Zhong xi yi jie he xue bao = Journal of Chinese integrative medicine*.
- Zhu, Jinfang et al. 2006. "GATA-3 Promotes Th2 Responses through Three Different Mechanisms: Induction of Th2 Cytokine Production, Selective Growth of Th2 Cells and Inhibition of Th1 Cell-Specific Factors." *Cell Research*.
- Ziegler, Steven F. 2012. "Thymic Stromal Lymphopoietin and Allergic Disease." *Journal of Allergy and Clinical Immunology*.

8. ETİK KURUL ONAY BELGESİ



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2.Kat. Erzene Ankara Cad. 35100 Bornova / İZMİR
Tel: 0 232 390 4219 - 373 78 81 Fax: 0232 390 21 34
e-mail: aetikk@mail.ege.edu.tr www.aek.med.ege.edu.tr



ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Çocuk Astım Hastalarında Remisyon Döneminde Salınan Sitokin Alarminleri ve Sitokin Moleküllerinin Nazal Sıvıda ve Serumda Biyobelirteç Olarak Değerlendirilmesi			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Yasemin AKÇAY			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UZMANLIK ALANI	Tıbbi Biyokimya			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-			
	DESTEKLEYİCİ	Bilimsel Araştırma Proje Fonu			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. kaynaklardan destek alanlar için)	-			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1 ☐	FAZ 2 ☐	FAZ 3 ☐	FAZ 4 ☐
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Gözlemsel İlaç Çalışması ☐		Tıbbi Cihaz klinik Araştırması ☐		
	İn Vitro Tıbbi Tanı Cihazları İle Yapılan Performans Değerlendirme Çalışmaları ☐		İlaç Dışı Klinik Araştırma ☒		
	Diğer ise belirtiniz				
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER				
	TEK MERKEZ ☒		ÇOK MERKEZLİ ☐		
	ULUSAL ☒		ULUSLARARASI ☐		
	Belge Adı		Tarihi	Versiyon Numarası	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ		-	-	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (7-12 YAŞ)		-	-	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (12-17 YAŞ)		-	-	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (EBEVEYN)		-	-	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐	
OLGU RAPOR FORMU		-	-	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐	
SİGORTA		☐			
ARAŞTIRMA BÜTÇESİ		☒ imza tarihi: 18.04.2017			
DİĞER		☐			
KARAR BİLGİLERİ	Karar Nu: 17-4/11		Tarih: 08.05.2017		
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak Kurulumuzca incelenmiş, araştırma giderlerinin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödetilmediği koşullarda araştırmaya başlanmasının etik açıdan uygun bulunduğu oy birliği ile karar verilmiştir.				
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU					
ÇALIŞMA ESASI		İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu, Tıbbi Cihaz Klinik Araştırmaları Yönetmeliği			
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. Ayşenur OKTAY			
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**) İmza
Prof. Dr. Ayşenur OKTAY Başkan	Radyodiyagnostik	EÜ. Tıp Fakültesi Radyoloji AD	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H
Prof. Dr. Aytül ÖNAL Başkan Yardımcısı	Tıbbi Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H
Prof. Dr. Suna TOKSAVUL Üye	Protetik Diş Tedavisi	E.Ü. Diş Hek. Fakültesi Protetik Diş Tedavisi AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H

Etik Kurul Başkanının Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Ayşenur OKTAY	İMZA 	Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Belge Kodu 22	Rev. Tarihi / No.su: 28.09.2011/05	Sayfa 1/2
--	----------	----------------------------------	------------------	---------------------------------------	--------------



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2.Kat. Erzene Ankara Cad. 35100 Bornova / İZMİR
Tel:0 232 390 4219 - 373 78 81 Fax: 0232 390 21 34
e-mail: aetikk@mail.ege.edu.tr www.aek.med.ege.edu.tr



ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

KARAR BİLGİLERİ		Karar Nu : 17-4/11				
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Sarenur GÖKBEN Üye	Çocuk Nörolojisi	EÜ. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Abdullah SAYINER Üye	Göğüs Hastalıkları	EÜ. Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları AD	E	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	KATILMADI
Prof. Dr. Bülent SEMERCİ Üye	Üroloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Üroloji AD.	E	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	
Prof. Dr. Süheyla ALTUĞ ÖZSOY Üye	Halk Sağlığı Hemşireliği	EÜ. Hemşirelik Fakültesi Halk Sağlığı Hemşireliği AD.	K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	TOPLANTIYA KATILMADI
Prof. Dr. Murat PEHLİVAN Üye	Biyofizik	E.Ü. Tıp Fakültesi Biyofizik AD.	E	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	
Prof. Dr. Çağatay ÜSTÜN Üye	Tıp Tarihi ve Etik	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıp Tarihi ve Etik AD.	E	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	TOPLANTIYA KATILMADI
Prof. Dr. Şafak TANER Üye	Halk Sağlığı	E. Ü. Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD.	K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	
Prof. Dr. Ayşe EROL Üye	Tıbbi Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	
Yard. Doç. Dr. Gülsün AYGÖRMEZ UĞURLUBAY Üye	Ceza Hukuku	Serbest	K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	TOPLANTIYA KATILMADI
Uzm. Ecz. Ebru BEDİR Üye	Eczacı	E.U. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	
Uzm. Dr. Özlem EKER Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	Serbest	K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	
Fatma BÜYÜKAKKUŞ Üye	Ziraat Mühendisi	Emekli	K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	

* Araştırma ile İlişki
** Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Ayşenur OKTAY	İMZA 	Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Belge Kodu 22	Rev. Tarihi / No.su: 28.09.2011/05	Sayfa 2/2
--	----------	----------------------------------	------------------	---------------------------------------	--------------

9. TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim boyunca maddi manevi her anlamda desteğini esirgemeyen, yol gösteren sorumluluk vererek gelişmemi sağlayan saygı değer hocam Sayın Prof. Dr. Yasemin AKÇAY'a, kıymetli görüşlerinden faydalandığım Sayın Prof. Dr. Eser Yıldırım SÖZMEN ve sayın Prof. Dr. Figen GÜLEN hocaya, çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım Gökçen KARTAL ÖZTÜRK ve Meltem KOCAMANOĞLU'na ve bu aşamaya gelmemde önemli katkıları olan tüm HOCALARIMA teşekkürü borç bilirim. Ayrıca lisansüstü eğitimime başlamamdaki en büyük desteğim olan ve bana her zaman inanan aileme bütün eğitim hayatım boyunca bana verdikleri destekten dolayı teşekkür ederim.

10. ÖZGEÇMİŞ



KİŞİSEL BİLGİLER

Ad: Mojtaba **Soyad:** Doulatpanah

Baba Adı: Amir Ali

Doğum yeri : Oroumieh

Doğum tarihi:1987

ID No: 9894

Pasaport No: V23934311

Ev Telefonu: +98 (481)-245-1070

GSM 1: +98 (0) 937 124 9896

GSM 2: +90 (0) 534 697 8466

E-posta: mojtabadolatpanah@yahoo.com

dolatpanah1987@gmail.com

Medeni Hali: Bekar

Eğitim Bilgileri

Lisans: Urmia Azad University. Veterinerlik Fakültesi Not ortalaması: 84,55

Çalışma Alanları:

Nehir Bufalosunda Epididimal Sperm Hareketliliği Maltoz Etkisi

Su Bufalosunda (Bubalus bubalis) Epididimal Sperm Hareketliliğinde Ksiloz Etkisi
ve Sperm Hareketliliğinde Rosa damascene Etkisi

Bilimsel Araştırma, Proje ve Tezler

1. Lisans tezi

“The effect of maltose on Epididymal Sperm motility of river buffalo in TCM 199”

2. “Effect of xylose on Epididymal Sperm motility in water buffalo (bubalus bubalis)”, yardımcı araştırmacı ve danışman
3. “Effect of Rosa damascene's Extract on Sperm motility”, Yürütücü

Bilimsel Yayınlar

1. “Effect of xylose on Epididymal Sperm motility in water buffalo (bubalus bubalis)”. International Journal of Fertility and Sterility on Embryology part of Royan International Twin Congress, 14th Congress on Reproductive Biomedicine, 4-5 Eylül 2013
2. “Effect of maltose on Epididymal Sperm motility in water buffalo” Veterinary clinical disease shiraz-Iran (2013).