ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AKAR ALERJİSİ OLAN ASTIMLI HASTALARDA SERUM İNTERLEUKİNLERİNİN (IL 13, IL 9, TNF) ÇALIŞMASI

Hiyam Sameer ABDULAMEER AL SAADI

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2021

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Hiyam Sameer ABDULAMEER ALSAADİ tarafından hazırlanan **"Akar Alerjisi Olan Astımlı Hastalarda Serum İnterlökinlerinin (IL 13, IL 9, TNF) Araştırılması"** adlı tez çalışması 13/10/2021 aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN

Eş Danışman : Dr. Suaad ALMASS BRAKHASS

Jüri Üyeleri:

Başkan : Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Mine TÜRKTAŞ ERTEN
Biyoloji Anabilim Dalı
Gazi Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Ebru GÜL
Orman Mühendisliği Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. İbrahim ÇİFTÇİ

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum **"Akar Alerjisi Olan Astımlı Hastalarda Serum İnterlökinlerinin (IL 13, IL 9, TNF) İncelenmesi"** konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim.

(13/10/2021)

Hiyam Sameer ABDULAMEER ALSAADI

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

AKAR ALERJİSİ OLAN ASTIMLI HASTALARDA SERUM İNTERLEUKİNLERİNİN (IL 13, IL 9, TNF) ÇALIŞMASI

Hiyam Sameer ABDULAMEER ALSAADI

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN
Eş Danışman: Dr. Suaad ALMASS BRAKHASS

Astım, klinik hastalık progresyonunun çevresel faktörlerden etkilendiği, solunum yolu-hava yollarının genetik bir inflamatuar hastalığı sorunudur. Genellikle eozinofil infiltrasyonu ile birlikte kronik hava yolu inflamasyonu, astımın ayırt edici özelliklerinden biridir. Çoğu astımlı, şiddetine göre geleneksel tıpla başarılı bir şekilde tedavi edilebilir, ancak bazı aşırı durumlarda, uzun süreli tedavi ile bile astım kontrolsüz kalır ve buna 'dirençli astım' denir. Artmış Th2-tipi yanıtlar, eozinofil aktivasyonu ve alerjik reaksiyonlar tarafından üretilen astımdaki hava yolu inflamasyonunun moleküler yolakları bilgisine dayalı olarak, şiddetli dirençli astım için biyolojik temelli yeni bir terapi stratejisi oluşturulmuştur. Astımı tedavi etmek için onaylanan ilk biyolojik preparasyon, insanlaştırılmış anti-insan IgE antikoruydu (anti-IgE; omalizumab). Anti-IgE ile tedavi (anti-IgE tedavisi), klinik kanıtlara dayalı olarak 2009'dan beri yetişkinlerde ve 2012'den beri çocuklarda şiddetli alerjik astım için yeni bir tedavi seçeneği olarak kabul edilmiş ve %60 etkililik oranına sahip olduğu gösterilmiştir. TH2 sitokin ailesinin interlökin (IL)-9 ve IL-13'ünün yakın zamanda mukozal bağışıklığın ve atopik astıma duyarlılığın belirlenmesinde anahtar bir bileşen olduğu öne sürülmüştür.

2021, 63 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Astım, Toz akarları, İnterlökin-13, İnterlökin-9, Tümör nekroz faktörü alfa

ABSTRACT

Master of Science Thesis

STUDY OF SERUM INTERLEUKINS (IL 13, IL 9, TNF) IN ASTHMATIC PATIENTS WITH MITE ALLERGY

Hiyam Sameer ABDULAMEER ALSAADI

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Melda DÖLARSLAN
Co-Supervisor: Dr. Suaad ALMASS BRAKHASS

Asthma is a problem of a genetic inflammatory disease of the respiratory tract-airways in which clinical disease progression is influenced by environmental factors. Chronic airway inflammation, usually with eosinophil infiltration, is one of the hallmarks of asthma. Most asthmatics can be successfully treated with conventional medicine according to their severity, but in certain extreme cases, even with prolonged treatment, asthma remains uncontrolled, which is known as'refractory asthma. A new biologic-based therapy strategy for severe refractory asthma has been created based on knowledge of the molecular pathways of airway inflammation in asthma produced by enhanced Th2-type responses, eosinophil activation, and allergic reactions. The first biological preparation approved to treat asthma was humanized anti-human IgE antibody (anti-IgE; omalizumab). Treatment with anti-IgE (anti-IgE therapy) has been recognised as a new therapeutic option for severe allergic asthma, IL in adults since 2009 and children since 2012, based on clinical evidence, and has been demonstrated to have a 60% effectiveness rate. The TH2 cytokine family's interleukin (IL)-9 and IL-13 have recently been suggested as a key component in determining mucosal immunity and susceptibility to atopic asthma. TNF- is a key player in the establishment of the Th2 cell response to allergens ingested.

2021, 63 pages

Keywords: Asthma, Dust mites, Interleukin-13, Interleukin-9, Tumor necrosis factor alpha

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde benimle değerli bilgilerini paylaşan, ne zaman danışsam değerli vaktini ayıran, sabırla ve ilgiyle bana yardımcı olmak için elinden geleni yapan, bir sorunum olduğunda tereddütsüz yanına gidebildiğim. , güler yüzünü ve samimiyetini benden esirgemeyen ve danışman öğretmen statüsünü layıkıyla yerine getiren tez danışmanım Doç. Dr. Melda DÖLARSLAN'a minnet ve şükranlarımı sunuyorum.

2 yıllık üniversite hayatım boyunca bana kattıkları ve gelecekte sesimi duyuracak bilgilerle donattıkları için diğer tüm üniversite hocalarıma teşekkür eder, saygılarımı sunarım. Bu hayattaki en büyük şansım olan, benden hiçbir zaman desteklerini esirgemeyen aileme minnet ve şükranlarımı sunuyorum.

Irak, Bağdat Alerji İhtisas Merkezi'ndeki tüm doktor ve personele numune toplama ve aletlerini kullanma konusunda bana yardımcı oldukları için teşekkür ederim.

Hiyam Sameer ABDULAMEER ALSAADI
Çankırı, Ekim 2021

İÇİNDEKİLER

ÖZET ..... **i**
ABSTRACT ..... **ii**
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR ..... **iii**
İÇİNDEKİLER ..... **vi**
KISALTMALAR DİZİNİ ..... **viii**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **ix**
ÇİZELGELER DİZİNİ ..... **x**
1. GİRİŞ **1**
2. LİTERATÜR İNCELEMESİ **5**
2.1 Alerji **5**
2.1.1 Alerji mekanizması **5**
2.2 Astım **6**
2.2.1 Astım fenotipleri **7**
2.3 Ev Tozu Akarları **9**
2.3.1 Blomia tropicalis **12**
2.3.2 Dermatofagoitler **12**
2.3.3 Ev tozu akarı alerjenleri **13**
2.3.4 Alerjen üretiminin fizyolojisi **15**
2.3.5 Rekombinant ve yerli ev tozu akarı alerjenleri **16**
2.3.6 Ev tozu akarı alerjisinin tedavisi **19**
2.4 Toz Akarlarının Neden Olduğu Astım **20**
2.5 Astım Patofizyolojisinde Sitokinlerin Rolü **23**
2.5.1 İnterlökin 13 ..... **23**
2.5.2 İnterlökin 9 ..... **25**
2.5.3 Tümör nekroz faktörü TNF **27**
3. MATERYAL VE YÖNTEM **31**
3.1 Çalışma Tasarımı **31**
3.2 Numunelerin Toplanması **31**
3.2.1 Hasta seçimi **31**

3.2.2 Anket **31**
3.2.3 Numunelerin toplanması **33**
3.3 Yöntemler **33**
3.3.1 Toplam IgE tahmini **33**
3.3.2 Spesifik IgE tayini **35**
3.3.3 IL-13 seviyeleri **37**
3.3.4 IL-9 seviyeleri **38**
3.3.5 TNF-α seviyeler **40**
3.4 İstatistiksel Analiz **42**
4. SONUÇLAR **43**
4.1 Genel Özellikler **43**
4.2 Toplam IgE Sonuçları **43**
4.3 IL-13, IL-9 ve TNF Sonuçları **44**
4.4 Çalışılan Parametrelerin Cinsiyete Göre Tahmini **47**
4.5 Çalışılan Parametrelerin Yaş Gruplarına Göre Tahmini **48**
4.6 Pearson Korelasyon Sonuçları **48**
KAYNAKLAR **52**
ÖZGEÇMİŞ **63**

KISALTMALAR DİZİNİ

APC	Antijen sunan hücre
B hücresi	Kemik iliği veya bursa kaynaklı hücreler
CCGF	CC motif kemokin büyüme faktörü
CCL	CC motif kemokin ligandı
CCR	CC motif kemokin reseptörü
CD4+	Farklılaşma kümesi 4
DC	Dendritik hücre
GM-CSF	Granülosit-makrofaj kolonisi uyarıcı faktör
HDM	Ev tozu akarları
IgE	İmmünoglobulin E
IL	Interlökin
LPS	Lipopolisakkarit
MMP'ler	Matriks metalloproteinazlar
NK	Doğal katil
PAF	Trombosit aktivasyon faktörü
QTL	Niteliksel özellik odağı
T hücresi	Timus hücreleri
NS	T-yardımcısı
TNF	Tümör nekroz faktörü
TSLP	Timik stromal lenfopoietin

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Alerji mekanizması (Austin et al. 2015) 6
Şekil 2.2 Sağlıklı (A) ve astımlı akciğerler (B) arasındaki farkların şematik gösterimi (Lambrecht et al. 2019) 9
Şekil 2.3 Astım hastalarında Th2 lenfositler yoluyla tip 2 immün yanıt (Yasuda et al. 2020) 22
Şekil 2.4 Astımda eozinofiliyi tetiklemede interlökin (IL)-13'ün rolü (Doran et al. 2017) 25
Şekil 2.5 Hava yollarında alerjik inflamasyon sırasında IL-9'un potansiyel rolü (Soussi-Gounni et al. 2001) 27
Şekil 2.6 Mast hücreleri, TNF-a'nın ana kaynağıdır ve bu salıverme genellikle IgE moleküllerinin alerjen çapraz bağlanmasıyla sağlanır (Babu et al. 2004) 30
Şekil 3.1 Toplam IgE'nin (IU/mL) kübik standart eğrisi 35
Şekil 4.1 Toplam IgE'de kontrol ve hasta grupları arasındaki karşılaştırma 44
Şekil 4.2 IL-9'da kontrol ve hasta grupları arasındaki karşılaştırma 45
Şekil 4.3 IL-9'da kontrol ve hasta grupları arasında karşılaştırma 46
Şekil 4.4 TNF-α'de kontrol ve hasta grupları arasındaki karşılaştırma 47

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1 Toplam IgE kitinin içeriği....34
Çizelge 3.2 Spesifik IgE kitinin içeriği....36
Çizelge 3.3 IL-13 kitinin kimyasal reaktiflerini listeler....37
Çizelge 3.4 IL-9 kitinin kimyasal reaktiflerini listeler....39
Çizelge 3.5 TNF-'nin kimyasal reaktiflerini listelerα takım....40
Çizelge 4.1 Kontrol ve hasta gruplarındaki faktörlerin sonucu....43
Çizelge 4.2 IgE'de kontrol ve hasta gruplarının karşılaştırılması....44
Çizelge 4.3 IL-13'te kontrol ve hasta grupları arasındaki karşılaştırma....45
Çizelge 4.4 IL-9'da kontrol ve hasta grupları arasındaki karşılaştırma....46
Çizelge 4.5 TNF-α'da kontrol ve hasta grupları arasındaki karşılaştırma....46
Çizelge 4.6 Hasta grubundaki parametreler çalışmasında cinsiyetin etkisi....47
Çizelge 4.7 Hasta grubundaki parametreler çalışmasında yaş gruplarının etkisi....48
Çizelge 4.8 Hastalardaki fark değişkenleri arasındaki korelasyon katsayısı....48

1. GİRİŞ

Alerji, normalde çoğu insan için zararsız olan, alerjenler olarak bilinen belirli çevresel maddelere karşı bağışıklık sisteminin aşırı veya aşırı duyarlılık reaksiyonudur. Evcil hayvan kepeği, toz akarları, yiyecekler, polenler, böcekler ve kimyasalların tümü yaygın alerjenlerdir (Göney vd. 2017, Austin *et al. 2015*). Astım, alerjik rinit ve konjonktivit, ev tozu akarlarına karşı en sık görülen alerjik reaksiyonlardan bazılarıdır (Doğan vd. 2008). 85 atopik dermatit hastasının ve 92 astımlı hastanın sonuçlarına dayanarak, Terreehorst ve arkadaşları 2002 yılında atopik bozukluğu olan üç elliden fazla hasta üzerinde yapılan deneysel bir çalışmada bu hastaların rinit enfeksiyonu öyküsü olduğunu keşfettiler. Bu hastaların ev tozu akarı duyarlılığı nedeniyle yüksek sıklıkta burun semptomlarından muzdarip olduklarını ima etmektedir. Ayrıca, bu üç tip atopik bozukluğun, özellikle solunum yolu alerjik bozuklukları arasında önemli bir bağlantı ilişkisine sahip olduğunu bulmuşlardır (Terreehorst *et al.* 2002).

Toz haşereleri en başta gelen astım alerjeni olarak kabul edilir ve birkaç kişi temel bir düzenli hassasiyete sahipken, diğerleri atopik dermatite dayanır, bazı durumlarda cilt iltihabı olarak bilinir ve bu, böceklerle temas ettiğinde hoş olmayan karıncalanma ve kızarıklığa neden olur. Astım, Pyroglyphidae (Acari) akar ailesinin hem Dermatophagoides farinae Hughes (Amerikan ev düzenli haşarat) hem de Dermatophagoides pteronysinus Trouessart (Avrupa ev düzenli haşarat) ile bağlantılıdır. Düzenli popülasyonlar veya evlerdeki düzenli haşere kalınlığının kesin doğası, onların gelişimini azaltmak ve düzenli hassasiyetteki ilişkilerini anlamak için temeldir (Sarwar 2020).

Alerjik rinit, burun mukozasının iltihaplanmasına neden olan alerjik bir reaksiyondur. Bilindiği gibi, rinit astıma göre ciddi değildir, ancak diğer yandan oldukça külfetli kabul edilir, bu da kişinin sağlığını etkiler. Alerjik rinit ayrıca HDM (ev tozu akarları) allejenleri tarafından da indüklenir ve semptomlar düzenli veya düzensiz olarak ortaya çıkar. Atopi, alerjik rinit veya astımı olan kişilerde yaygındır ve ailelerinde de görülür. Atopi, genellikle immünoglobulin E (IgE) antikorlarının aracılık ettiği, tipik olarak zararsız kimyasallara karşı akut aşırı duyarlılık reaksiyonlarına neden olan genetik bir

yatkınlıktır. Birçok bilimsel çalışmada atopi, deri döküntüleri (dermatit), şiddetli hapşırma (rinit), astım ve konjonktivit gibi alerjik hastalıklar arasında ana bağlantı olarak sunulmuştur (Terreehorst *et al.* 2002). Alerjik konjonktivit, havadaki alerjenlerin neden olduğu gözün konjonktiva zarının iltihaplanmasıdır. Atopik dermatit ise aşırı duyarlı bir reaksiyonun neden olduğu cilt tahrişidir.

Alerjide, rinit ve astım en çok çocuklarda, ergenlerde ve genç erişkinlerde görülür. Semptomlar insanlar yaşlandıkça azalabilir, ancak ömür boyu sürebilir. Bir kişi bir alerjene bir kez maruz kalırsa ve ona karşı duyarlı hale gelirse, ilk maruz kalmanın bir sonucu olarak bir alerji geliştirdiği söylenir. Bir alerjen burun mukoza zarını tahriş ettiğinde alerjik bir reaksiyon meydana gelir. APC'ler, TH2 hücrelerinin daha sonra interlökin-4 (IL-4) ve interlökin-5 (IL-5), inflamatuar hücreler saldığı ve bazofilleri ve eozinofilleri hava yollarına çeken T helper-2 (TH2) lenfositlerine alerjenler gösterir. Granüle eozinofiller olarak adlandırılan beyaz kan hücrelerinin astımda önemli bir rolü vardır (Small 2003, Hogan *et al.* 2008).

Bu granülositler, sağlıklı insanların hava yollarında nadir olarak gözlenir, ancak astımlıların yaklaşık yarısı, kanlarındaki ve dokularındaki önceki hücrelerin seviyeleri çarpıcı biçimde yükselir (Wenzel *et al.* 1999). Degranülasyona sıklıkla solunum yollarının artan eozinofilik inflamasyonu eşlik eder ve bu durum büyük ölçüde daha büyük astım şiddeti ile ilişkilidir. Eozinofiller, uyarıldığında hızla immünomodülatör sitokinleri serbest bırakır (Davoine and Lacy 2014). En iyi bilinen eozinofil aktivatörlerinden biri, eozinofili oluşturmak için PAF reseptörü ve diğer yollar üzerinde etkili olan güçlü bir lipid aracısı olan trombosit aktive edici faktördür (PAF). IL-4, IL-5 ve IL-13'e ek olarak, eozinofiller bir dizi başka Th2 sitokini üretir ve depolar (Davoine and Lacy 2014).

Eozinofilik enflamatuar bozukluklarda, hem IL-9 hem de IL-13, bir Th2 fenotipine karşı bağışıklık tepkisini eğirir (Schmid-Grendelmeier *et al.* 2002, Zhou *et al.* 2001). Bu Th2 sitokinlerinin bağışıklık ve astımdaki rolü iyi belirlenmiş olmasına rağmen, eozinofillerdeki benzersiz hücre içi ticaret mekanizmaları henüz tanımlanmamıştır. Sitokinler, inflamatuar hücre büyümesini, farklılaşmayı, güçlendirmeyi, hazırlamayı,

aktivasyonu ve hayatta kalmayı teşvik ederek astımlı hava yolu inflamasyonunun düzenlenmesine yardımcı olur. Bireysel sitokinler, örtüşen hücre düzenleyici eylemlere sahip olabilir ve karmaşık sitokin ağları işlev görebilir. Astımın interlökin 4 (IL-4), IL-5 ve IL-13 sitokin profilleri olan bir T yardımcı hücre tipi 2 (Th2) hastalığı olduğu düşünülmektedir. Kanıtlara göre, Th1 tipi bir profille ilişkili olduğu varsayılan diğer sitokinler astımdaki inflamatuar yanıtla ilişkilendirilmiştir. TNF-a, hem in vitro hem de in vivo araştırmalarda astımlı hava yolu inflamasyonunda bir işlev oynadığı gösterilen bir Thl sitokindir. TNF ekspresyonu, astımlı hava yollarında normal hastaların hava yollarına göre daha yüksek bulunmuştur (Brading *et al.* 1994).

Kronik alerjik astımda, alerjen alt solunum yollarındaki submukozal mast hücrelerini uyarır, bronşların daralmasına ve sıvı ve mukus deşarjlarında artışa neden olarak nefes almayı zorlaştırır. Bunun nedeni, aktif mast hücrelerinin ve eozinofillerin sürekli olarak sitokinler ve lökotrienler gibi kimyasal aracıları oluşturduğu ve saldığı geç faz reaksiyonudur. Mast hücreleri ayrıca IL-5 üretir, bu aynı zamanda eozinofil olan diğer hücrelerin üretilmesine yol açar ve bunlar da iltihaplanmada rol oynayan diğer aracıları üretir. Alerjik rinit; özellikle kronik tip; benzer bir geç faz reaktivitesi sergiler (Abbas *et al.* 2014, Vogel 1997). Ev tozu akarı alerjisi çeşitli şekillerde teşhis edilebilir. Küçük miktarlarda farklı alerjen ekstraktlarının genellikle üst kola daldırıldığı deri delme testi, Hastanın tepkisini ölçmek belki de en popüler yaklaşımdır. Alerjen özleri genellikle normal bileşenlerden yapılır, doğası gereği kalitesine rağmen hala bir takım dezavantajları vardır. Bileşenlerinin en yaygın türleri, ekstraktın bozulmasına ve etkinliğini kaybetmesine neden olabilecek proteolitik enzimler gibi diğerlerine ek olarak alerjik olmayan proteinlerdir. İkincisi, alerjenlerin yapısı ve miktarı değişebilir. Üçüncüsü, diğer kaynaklardan gelen alerjiler onları kirletebilir (Chapman *et al.* 2000). Bu da özütün bozulmasına ve etkinliğini kaybetmesine neden olabilir. İkincisi, alerjenlerin yapısı ve miktarı değişebilir. Üçüncüsü, diğer kaynaklardan gelen alerjiler onları kirletebilir (Chapman *et al.* 2000). Bu da özütün bozulmasına ve etkinliğini kaybetmesine neden olabilir. İkincisi, alerjenlerin yapısı ve miktarı değişebilir. Üçüncüsü, diğer kaynaklardan gelen alerjiler onları kirletebilir (Chapman *et al.* 2000).

Çalışmanın amacı:

- Toplam ve spesifik IgE, IL-13, IL-9 ve TNF- tahminiα Irak astımlı hastalarda serum ve eozinofil sayısında.

2. LİTERATÜR İNCELEMESİ

2.1 Alerji

Alerjiler, normalde zararsız olan bir şeye karşı bağışıklık sisteminin aşırı tepki vermesidir. Çeşitli alerjilerin farklı tetikleyicileri, semptomları (hafif ila yaşamı tehdit eden arasında değişen) ve tedavileri ile popülasyonda farklı oluşum sıklıkları vardır. Bazı alerjiler, diğer hastalıklarınkine benzer belirtiler gösterir (Austin *et al.* 2015).

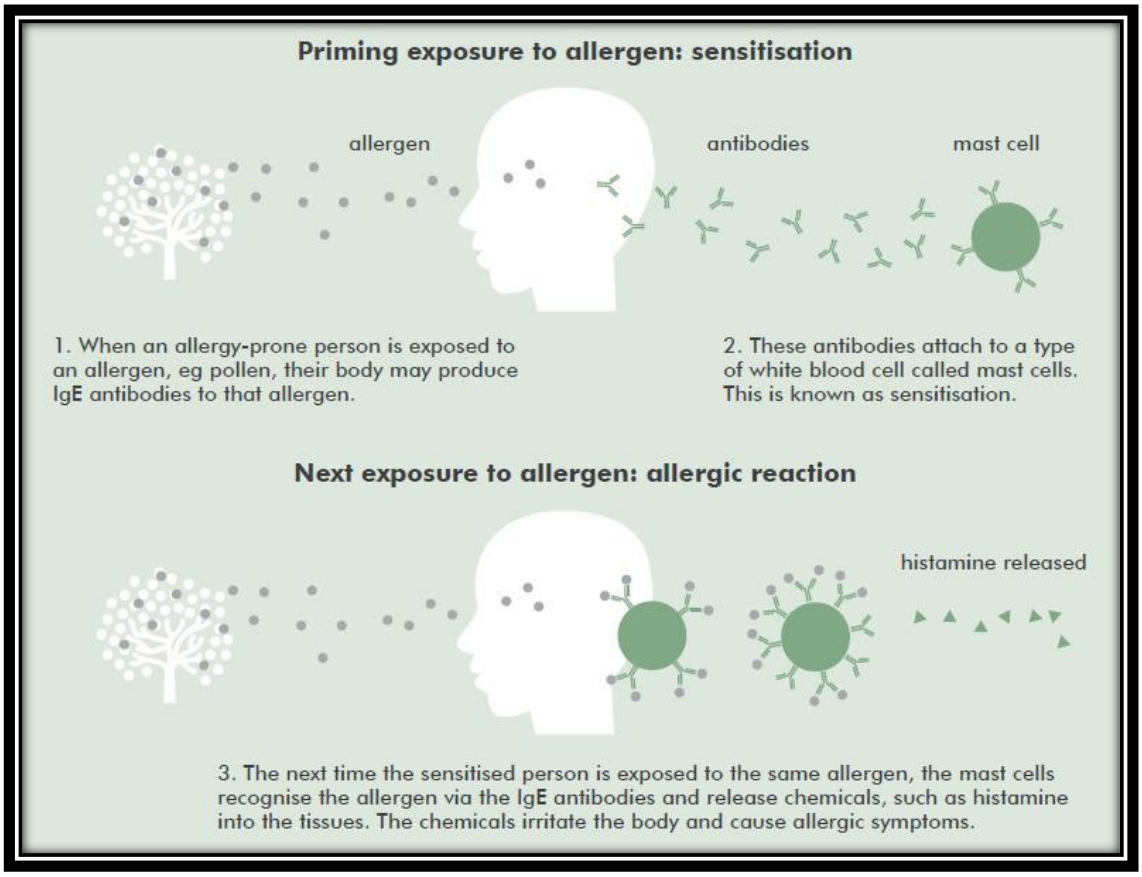
2.1.1 Alerji mekanizması

Bir kişi bir alerjene ilk kez maruz kaldığında, alerjen dendritik hücreler tarafından en yakın lenf düğümündeki T lenfositlerine taşınır. Kişiye alerjisi olmayan herhangi bir madde yok sayılır ve elimine edilir. Malzeme lenfositler tarafından alerjen olarak tanınırsa, alerjik reaksiyonla sonuçlanan karmaşık bir immünolojik reaksiyonlar zinciri oluşur (Sears and Sears 2015).

Alerjenle ilk karşılaşma, o lenf düğümündeki Th2 tipi T hücreleri çoğalır. Th2 lenfositleri, zaten unutmuş olabileceğiniz gibi, bağışıklık sisteminin geri kalanını alerjik bir şekilde tepki verecek şekilde programlamaktan başlıca sorumlu olan bağışıklık hücreleridir. Bunu, alerjen vücuda bir daha girdiğinde tepki verecek IgE antikorları oluşturan B lenfositlerini aktive etmek için sitokinler salgılayarak gerçekleştirirler. Bu sitokin aracılı aktivasyon, herhangi bir zamanda salınmaya hazırlık olarak B hücrelerini IgE antikorları ile hazırlayarak ve yükleyerek tüm vücutta gerçekleşir. Ancak sitokinler burada bitmiyor. Ayrıca mast hücrelerini, bazofilleri ve vücut dokularında ve mukus astarlarında bulunan doğuştan gelen bağışıklık hücrelerinin geri kalanını söz konusu alerjene tepki verecek şekilde düzenlerler (Sears and Sears 2015).

Alerjenle ikinci karşılaşma, alerjeni ilk tanıyan ve ona bağlanan IgE antikorlarıdır. Antikor/alerjen kombinasyonu daha sonra, iki yoldan biriyle yanıt veren doğuştan gelen bağışıklık hücreleri tarafından tanınır: Çevre dokularda şişme, batma ve tahrişe neden olan maddeler (histamin, asitler ve enzimler) salgılarlar. alerjiye yanıt veren bağışıklık

hücrelerini bölgeye çeken sitokinler. T ve B lenfositleri tetiklenir ve alerjik reaksiyon, alerjinin şiddetine göre değişen derecelerde tüm vücuda yayılır. Histaminler ayrıca, beyni alerjenin varlığına karşı uyaran bölgedeki duyusal sinir hücrelerini aktive ederek hapşırmaya neden olur (Sears and Sears 2015) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 Alerji mekanizması (Austin *et al.* 2015)

2.2 Astım

Astım, hem çocukları hem de yetişkinleri etkileyen ve çok çeşitli solunum semptomları ve hava akımı kısıtlamaları ile karakterize edilen kronik, bulaşıcı olmayan bir durumdur: örneğin hırıltı, nefes darlığı, göğüste sıkışma ve zamanla yoğunluğu değişen öksürük (Pani *et al.* 2018). Geri dönüşümlü hava akımı kısıtlamasının varlığı astım tanısı için gerekli bir işarettir. Eozinofiller, nötrofiller, lenfositler ve mast hücreleri gibi inflamatuar hücreler ve ayrıca hava yolu bileşenleri, hava yolu iltihabı, bronşiyal epitel

hücreleri, fibroblastlar ve bronşiyal düz kas hücrelerinin yanı sıra çeşitli hümoral bileşenlerde yer alır. Kalıcı hava yolu iltihabının bir sonucu olarak, geri dönüşü olmayan hava akımı kısıtlamalarına neden olur (Lambrecht *et al.* 2019, Peters *et al.* 2020) (Şekil 2.2).

2.2.1 Astım fenotipleri

Astım heterojen bir hastalıktır "çok sayıda fizyolojik süreçle birlikte çok sayıda nedeni olan tıbbi bir hastalık için kullanılan tıbbi bir kelimedir". Klinik özelliklere ek olarak farklı fizyolojik özellikler, astım formlarını "veya adlandırılmış astım fenotipleri" olarak tanımlamaktadır.

Tanımlanabilecek farklı astımlı özellik grupları vardır. Bu kümeler genellikle astım fenotipleri olarak adlandırılır. Şiddetli astımı olan hastalar için fenotip rehberliğinde tedavi mevcuttur. Ancak henüz, ayrı patojenik özellikler ile spesifik klinik paternler veya terapötik yanıtlar arasında kesin bir bağlantı kurulmamıştır, fenotipik sınıflandırmanın astımda klinik olarak etkili olduğu kanıtlanmamıştır ve ek araştırmalara ihtiyaç vardır (Bel 2004, Moore *et al.* 2010, Wenzel 2012).

Klinik ve fenotipik olarak astımın farklı ve benzer birkaç türü vardır, bunlardan en yaygın olanları şunlardır:

• Alerjik astım: Bu, genellikle çocuklukta başlayan ve ailede egzama, alerjik rinit veya gıda veya kimyasal alerjiler gibi alerjik hastalık öyküsü ile bağlantılı olan en iyi bilinen astım fenotipidir. Tedaviden önce bu kişilerin ürettiği balgam sıklıkla eozinofilik hava yolu iltihabını ortaya çıkarır. Bu astım fenotipine sahip hastalarda inhale kortikosteroid (ICS) tedavisi iyi sonuç verir.

• Alerjik olmayan astım (veya *içsel)*: İnsanların yaklaşık %10 ila %33'ü bu astımdan etkilenir ve tipik olarak kadın ağırlıklı olmak üzere alerjik astımdan sonra gelişir. Birçok durumda, alerjik olmayan astım, alerjik astımdan daha şiddetli görünmektedir ve geleneksel tedaviye daha az yanıt verebilir. Astımlı hastaların çok azında alerji ile ilişki

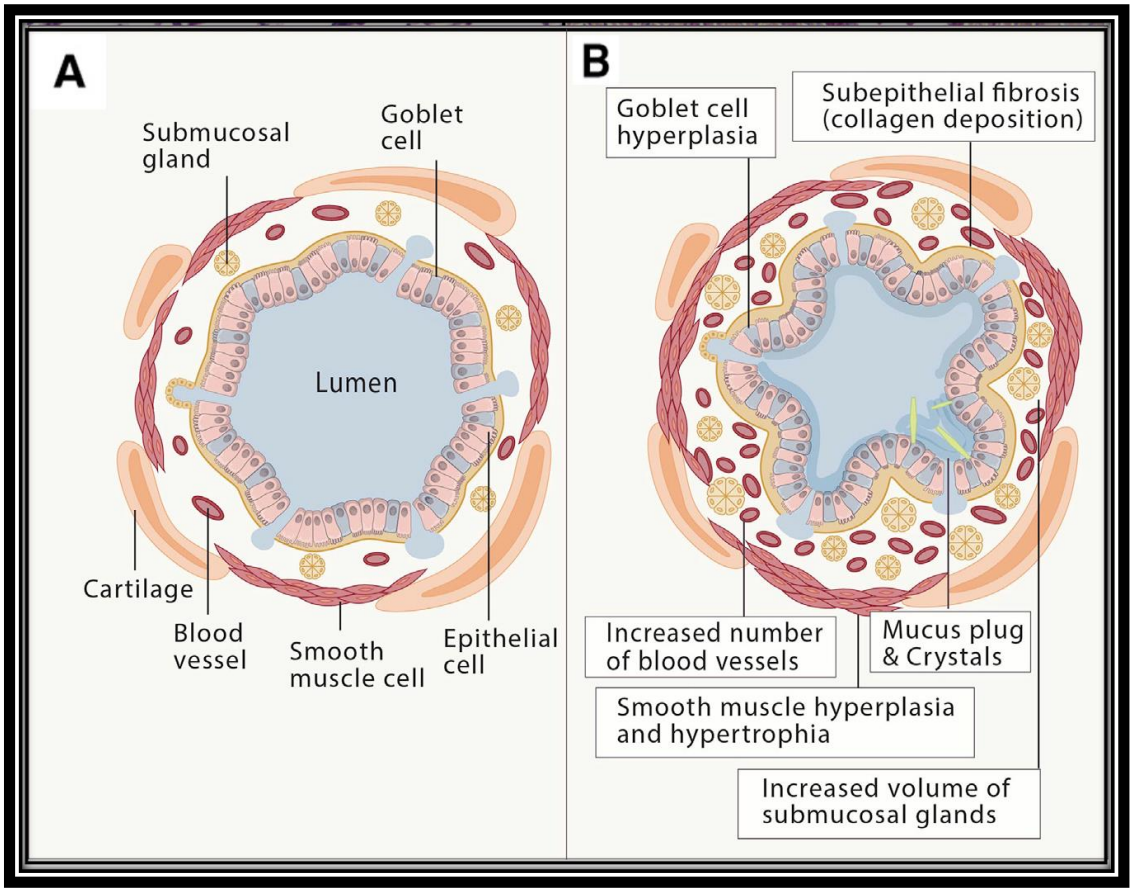
olmayabilir. Bu bireylerin balgamları nötrofilik, eozinofilik veya sadece birkaç inflamatuar hücre (pausigranülositik) ile inflamatuar hücre profiline sahip olabilir. Alerjik olmayan astım hastaları genellikle ICS'ye daha kötü kısa vadeli yanıt verir.

• Erişkin başlangıçlı (geç başlangıçlı) astım: bazı yetişkinler, özellikle bayanlar, yetişkinlik döneminde ilk kez astım gösterirler. Bu hastalar alerjik olmama eğilimindedir ve düzenli olarak daha yüksek ICS ölçümleri gerektirir veya kortikosteroid tedavisine orta derecede inatçıdır. Geç başlangıçlı astım (LOA) olarak da bilinen erişkin başlangıçlı astım, nüfus yaşlandıkça artıyor. Eozinofilik alevlenmenin yakınlığı veya yokluğu, temel olarak LOA fenotipini iki türe ayırır; LOA, T-yardımcı (Th)2 ve Th2 olmayan hücrelere bağlı. Erişkin başlangıçlı astımı gösteren hastalarda, sözcükle ilişkili astım (yani iş yerinde maruziyete bağlı astım) ekarte edilmelidir.

• Kalıcı hava akımı sınırlamalı astım: Uzun süreli astımı olan bazı kişilerde kalıcı veya tam olarak geri dönüşü olmayan hava yolu kısıtlaması olur. Bunun hava yolu duvarının yeniden şekillenmesiyle bağlantılı olduğu varsayılmaktadır.

• Obezite ile ilişkili Astım: Obezite, kendi fenotipik ve endotipine sahip astım hastalarında sıklıkla bir sorun anahtarı olarak kabul edilmiştir. Bu bağlantı, metabolik ve inflamatuar düzensizlik arasında bir bağlantı olduğunu düşündürmektedir. Diğer yandan spesifik organ-organ, hücresel ve moleküler ilişkiler çözülmeden kalır. Astımlı birkaç kilolu hastada belirgin solunum yan etkileri ve küçük eozinofilik solunum tahrişi vardır.

Tanı konulduktan sonra astımın doğal seyri hakkında veri olmamasına rağmen, bir araştırma yeni astım teşhisi konan kişilerin yaklaşık %16'sının 5 yıl içinde remisyona girebileceğini ortaya koydu (Peters 2014, Hirano and Matsunaga 2018, Westerhof *et al.* 2018, Miethe *et al.* 2020).



Şekil 2.2 Sağlıklı (A) ve astımlı akciğerler (B) arasındaki farkların şematik gösterimi (Lambrecht *et al.* 2019)

2.3 Ev Tozu Akarları

Ev tozu akarları (HDM), dış iskeletler ve uzuvlar ile karakterize edilen hayvanlar olan Eklembacaklılardır, şelatlı alt tiplerin yanı sıra araknidler, akarlar ve astigmatizmaların tümü, özel solunum organları ile de karakterize edilen ev tozu akarları hayvanlarına dahildir (Arlian and Platts-Mills 2001). HDM, yaygın inanışın aksine, böceklere değil, Uniramia sınıfının üyelerine aittir. Ev tozu akarları, böceklerden tamamen farklı bir şekle ve fizyolojiye sahiptir. Sonuç olarak, standart pestisitler böcekleri yok etmede etkili olmuştur. Toz akarı popülasyonları böcekler tarafından kontrol edilemez (Arlian and Platts-Mills 2001). Bu bakteriler 0,1 ila 0,6 mm arasında değişir ve çıplak gözle görülmez. Bunları uygun şekilde tanımlamak için en az on kat büyütmeli bir büyüteç gereklidir.

Vücutları yuvarlaktır ve renkleri kremden yarı saydam beyaza kadar değişen sekiz ayaklıdır. Erkek ve dişi çiftleştiğinde ev tozu akarları eşeyli olarak ürerler. Toz akarları, döllenmiş bir dişi günde birkaç yumurta bıraktığında yaşam döngülerine başlar. Hekzapod larvası yumurtadan çıkar ve hayatının geri kalanında aktif olmaya devam eder. Örtülerini çıkarıp kısa süreliğine sekiz bacaklı hareketsiz protozoaya dönüştüler. Protonimfler kabuklarını döker ve olgunlaşarak daha büyük, daha aktif triton böcekleri haline gelir (Vona 1997). Bu geliştirme döngüsünün uzunluğu bilinmemektedir, ancak her döngüde yaklaşık iki ila altı hafta sürebilir. Dişinin yumurta sayısı bilinmiyor, ancak altı haftalık yaşamında 40 ila 100 yumurta bırakabileceği düşünülüyor. İklim koşullarına bağlı olarak yaklaşık iki ila beş yıl yaşayabilir ve yaşayabilir; aylar.

Bu küçük organizmalar çoğunlukla mantar, maya ve bakterilerin yaşadığı insan ve evcil hayvan kepeği ile beslenir, ancak evde biriken diğer organik atıkları da yiyebilirler (Colloff *et al.* 1992). Toz akarları ve mantarlar henüz kesin olarak keşfedilmemiştir, ancak mantarların akar popülasyonlarının genişlemesini hızlandırdığı düşünülmektedir (Hart 1998). Sonuç olarak, daha fazla araştırmaya ve farklı ev tozu akarı türleri arasında rekabetçi etkileşimler olasılığına ihtiyaç duyulmasına rağmen, mantarların ev tozu akarlarının yönetiminde biyolojik olmayan bir unsur olarak ele alınması çok önemli görünmemektedir. Bu mikroplara karşı alerji, dışkılarında yaydıkları metabolitlerden kaynaklanır. Yatak takımları ve benzeri ürünler işlenirken ışığın altında görünen yüzen toz bulutu bu tür çöpleri içerebilir (Hart 1998).

Ev tozu akarları, ev ve işyerlerinde başta eski olanlar olmak üzere hemen hemen tüm mobilyalarda ve onların hayatta kalma gereksinimlerini karşılayan eşyalarda bulunabilir. Halılar, perdeler, şilteler, yastıklar, peluş oyuncaklar gibi yünlü ürünler ve kumaşlar gibi ve kâğıt gereksinimleri kitaplar gibi. Tropikal bromia (Bt) ve ev tozu akarları (Dp), örneğin, her evde, özellikle bağıl nemin yüzde kırk beşin üzerine çıktığı ve yüksek sıcaklıkların altmıştan fazla fehrinite ulaştığı yerlerde, her evde değişmez bir şekilde bulunur. Seksen fehrinit (Hart 1998). Toz akarları sularını etraflarındaki havadan buharı emerek alırlar. Sonuç olarak, birçok bilim insanı evdeki alerji seviyelerini azaltmak için iç mekân neminin düşük tutulmasını tavsiye ediyor.

Hindistan'da yapılan bir araştırmaya göre, yaz aylarında kene sayısı yağışlı mevsime ve eylül-ekim ayları arasındaki kış aylarında olduğundan daha düşüktür (Tilak 1989). Son derece yüksek yaz sıcaklıkları, düşük bağıl nem yüzde yirminin altına ulaşır ve yağmur eksikliği de bu çalışmada akar büyümesi ve üremesi için favori olmayan faktörler olarak bulunmuştur. Çoğu ailede, yataktaki toz akarlarının miktarı yerdekinden daha fazladır, bu da bunun, bu akarların insan yaşam alanıyla ilişkili olmasından kaynaklanabileceğini düşündürür. Ayrıca, eski, nemli ve yetersiz havalandırılan evlerin toz akarı yaşaması için yeni, iyi havalandırılan evlere göre daha iyi olduğunu keşfettiler. Alerjisi ve astımı olan farklı hasta gruplarında aynı anda değerlendirilen alerjilerin şiddeti, mevsimsel değişiklikler, ev tozu akarlarının yoğunluğu ve apartman tipi ile doğru orantılıdır.

Araştırmacılar, 1997 yılında ev tozu akarları tarafından duyarlı hale getirilen astım hastaları üzerinde yapılan bir çalışmada, hava yolu alerjileri ve diğer türdeki parametrelerin alerjen maruziyeti ve mevsimlerdeki değişikliklerle bağlantılı olduğunu keşfettiler (Van der *et al.* 1997). Ev tozu akarı alerjen seviyelerinin sonbaharda ilkbahara göre daha yüksek olduğunu keşfettiler. Bir başka ilgi çekici keşif, hava yollarına aşırı duyarlılık ve hassaslaşmış bireylerin toplam serumunun yanı sıra ev tozu akarına özgü IgE'dir. Serum IgE seviyeleri de sonbaharda daha yüksektir ve nem seviyeleri ilkbahardan daha yüksektir. Toz akarlarını öldürmek için akarisitler kullanabilir ve bu mikroplarla evde mücadele etmek için bezi en az haftada bir kez çok sıcak suyla yıkayabilirsiniz.

Ayrıca, ilgili ek ev ürünleri vardır. Ayrıca şilte ve yastıklarınızı koruyucu örtülerle örtmek ve evinizde cebri havalandırma veya klima kullanmak iyi bir fikirdir. Toz akarı maruziyetini azaltmanın anahtarı, bağıl nemi %50'nin altında tutmaktır (Arlian and Platts-Mills 2001). Öte yandan, bu ve diğer yüksek düzeyde kontrollü prosedürler, çoğu insan için zorlu bir girişim olan sürekli ve süresiz olarak takip edilmelidir. Toz akarı maruziyeti, özel şilte kaplamaları, mitisitler ve diğer anti-alerjik maddeler kullanılarak azaltılabilir. Toz maliyetli olabilir. Ayrıca, mağazada bulmak zor.

Bu kontrol yaklaşımları, çeşitli ailelerde farklı sonuçlara sahip olabileceğinden, birbirleriyle bağlantılı olarak kullanılmalıdır (Colloff *et al.* 1992). Bu mikroskobik

organizmaları kontrol etmek de gereklidir. Etkili olduğu kanıtlanmıştır. Öte yandan bilimsel çalışma, daha yüksek rakımlara veya toz akarlarından arınmış konutlara taşınan astım hastalarının bronşiyal alerjiler gibi semptomlar yaşayabileceğini göstermektedir, bu nedenle bazı bilim adamları ev tozu akarlarını ortadan kaldırmaya yönelik adımları savunmaktadır. Alerjik bozuklukların tedavisinde antihistaminiklere uygulanabilir bir alternatif olarak (Van der Heide *et al.* 1997).

2.3.1 Blomia tropicalis

Blomiatropicalis (Bt), çok uzun sırt tüyleri (kıllar), arkalık ve anal emme aparatı olmayan ev tozu akarlarının Glyciphagidae ailesinin bir üyesidir; vücutları küçük meme uçlarıyla kaplıdır (Van Bronswijk 1973). Blomia cinsinin tüm üyeleri, metatarsların altındaki pulların olmaması ve diğer cinslerde bulunan pençelerin olmaması ile aynı ailedeki diğerlerinden ayırt edilir. Türler arasında bazı küçük morfolojik değişiklikler de vardır. Bt'yi diğerlerinden böyle anlatıyorlar (van Hage-Hamsten and Johansson 1998). Depolarda, ahırlarda, samanda ve samanda daha çok tahıl ve unda bulundukları için "depo akarları" veya "depo akarları" olarak bilinirler (Fernández-Caldas 1997). Depolama akarları ilk olarak mesleki alerji hastalıkları bağlamında incelenmiştir; diğer Bt ve glikolipid akarları evlerde her yerde bulunur ve "keneler" veya "evsel keneler" olarak sınıflandırılır. Dev ev keneleri arasında en az çalışılan biyoloji ve ekoloji Bt'dir. Öte yandan toz akarlarının, özellikle güney yarım kürede yapılan çeşitli çalışmalarda önemli bir iç mekân alerjisi kaynağı olduğu bildirilmiştir (van Hage-Hamsten and Johansson 1998). Şeker yiyen akarlar ve bilinen diğer ev tozu akarlarının çoğu ilk olarak memelilerde, özellikle kuş yuvalarında ve diğer ortamlarda keşfedilmiştir. İnsanların yaşam alanlarının ısınma, nem ve yiyecek gibi ortak nitelikleri paylaştığı ve bu da onları HDM'ler için iyi bir yuva haline getirdiği düşünüldüğünde, bu sonuç şaşırtıcı değildir (Colloff 1998).

2.3.2 Dermatofagoitler

Dermatophagoides, dünya genelinde tropik iklimlerde bulunan “Pyroglyphidae” adı verilen ev tozu akarı türüne aittir (Platts-Mills 1992). Anal emicilerin varlığı,

Pyroglyphidae üyelerinin ayırt edici bir özelliğidir. Ön ve arka kalkanların yanı sıra gövde, "parmak izlerine" benzeyen değişken uzunlukta şeritler ve kıl desenleri içerir (Colloff *et al.* 1992). "Ev tozu akarları" ifadesinin geleneksel kullanımı, neredeyse tamamen ve sürekli olarak ev tozu içinde yaşayan Pyroglyphidae familyası üyelerini ifade eder.

2. Uluslararası Keneler ve Astım Allerjenleri Sempozyumu (1990), bu familyanın ve Bt'nin ait olduğu Glycyphagidae familyasının; "ev keneleri" olarak anılacaktır. Toz akarları (Dp) ve toz akarları (Df), dünya genelinde Pyroglyphidae ailesinin en sık görülen üyeleridir. 49 Pyroglyphidae toz akarı türünden on üçü ev tozunda bulunurken, geri kalanı esas olarak kuş yuvalarında veya tüylerinde yaşar (Colloff 1998). Yakından ilişkili Pyroglyphidae cinsleri Dermatophagoides ve Euroglyphus, dünyanın birçok ülkesinde en yaygın olanlarıdır (Fernández-Caldas 1997).

2.3.3 Ev tozu akarı alerjenleri

Uluslararası İmmünolojik Dernekler Federasyonu'nun (WHO) Alerjen Adlandırma Alt Komitesi, bileşikleri alerjen olarak sınıflandırmak için kurallar oluşturmuştur (Larsen and Løwenstein 1996). Yalnızca %5'ten yüksek IgE yanıt oranına sahip alerjenleri değerlendirin. Ayrıca, alerjenler, belirli bir IgE ile ne kadar yakından bağlantılı olduklarına bağlı olarak "ana" veya "küçük" alerjenler olarak sınıflandırılabilir. Test edilen kişinin sistemdeki alerjene karşı alerjik reaksiyonu vardır. Tabii ki, test kiti seçimi, hasta seçim kriterleri, coğrafi konum, çevresel koşullar ve benzeri gibi IgE prevalansının belirlenmesinde birçok doğal unsur, IgE prevalansının belirlenmesinde rol oynar.

Panel, belirli maddelerin hassaslaştırıcı etkisini araştırmak için gerçekten alerjisi olanlardan en az 20-30 insan serumu kullanılmasını önerir (Marsh *et al.* 1988). Çeşitli bilimsel araştırmalar, ev tozu akarı alerjeninin son otuz yılda dünyanın çeşitli ülkelerinde alerji ve astımın başlıca nedeni olduğunu göstermiştir (Chapman *et al.* 1997).

Moleküler biyoloji tekniklerindeki gelişmeler sayesinde birçok alerjenin organik özellikleri ve yapısal özellikleri, birçok alerjen çalışması üzerinde çalışılmakta veya tamamlanmamış olsa da, çözülmüştür. Alerjenlerin organik doğasının, alerjenliklerinde en önemli veya temel alerjenlerden biri olduğu kanıtlanmadığından, muhtemelen bir alerjene duyarlılık veya proteinin üst sınırını artırmak için gerekli olacak immünolojik ortamın yaratılmasına yardımcı olmada rol oynar. Bir IgE antikor yanıtı ortaya çıkarma potansiyeli". Bilim adamlarına göre, en yaygın enzimler olan sistein proteazları gibi enzimatik aktiviteye sahip alerjenik kimyasallar, mukozal yüzeyleri uyarmaya ve bunların spesifik işlemlerini teşvik etmeye yol açar (Travers *et al.* 1997).

IgE üretimi ve gelişmiş TH2 hücre yanıtı, grup 1 ev tozu akarlarının en iyi karakteristik alerjenleridir (Chapman *et al.* 2000). Der p 1'in, düşük afiniteli bir IgE reseptörü olan CD23'ü parçaladığı ve bu reseptörün aracılık ettiği IgE üretiminin negatif geri besleme kontrolünü bozduğu gösterilmiştir (Schulz *et al.* 1997). Ancak herhangi bir kaynaktan, özellikle HDM'den çok sayıda alerjen olduğu için; farklı biyolojik aktiviteye sahip oldukları tespit edildiğinden, IgE yanıtını tetiklemek için enzimatik fonksiyon gerekli değildir. Ev tozu akarı proteinlerinde bulunan diğer alerjenler, 3. grup (Grup-3) alerjenleri, amilaz aktivitesine sahip 4. grup "Der p 4" alerjenleri ve pankreas pıhtılaşma aktivitesi olan 6. grup "Der p 6" alerjenlerini içerir. Grup 2, 5, 7 ve 12'de bir yağ asidi ve alerjen bağlayıcı protein olarak laktaz benzeri proteazlar, grup on ve tropomyozin (yapısal protein olarak kabul edilir) ve bunların tümü belirsiz biyolojik fonksiyonlara sahiptir (Robinson *et al.* 1997, Stewart and Robinson 2003).

Bazı araştırmalar alerjen hassaslaştırıcı dozlardan bahseder, ancak dahili alerjen ve astım raporu: Üçüncü uluslararası sempozyum raporu Alerjen konsantrasyonunu her gram toz için 2 mg alerjene (gram başına 100 akar) ayarlayın (Platts-Mills *et al.* 1997). Bazı araştırmaların gösterdiği gibi, alerjen stabilitesi, IgE epitopu bölünürken alerjik reaksiyonlarda da rol oynayabilir (Chapman *et al.* 2000). Alerjenler yapı olarak farklılık gösterir ve biyolojik rollerine göre farklı protein ailelerine sınıflandırılır, bu da alerjenlerin onları alerjik yapan yapısal veya intrinsik özelliklerin çok azını paylaşabileceklerini veya hiç paylaşamayacaklarını ima eder (Bufe 1998).

Alerjen duyarlılığı ve alerjik reaksiyonlar söz konusu olduğunda, genetik yatkınlık veya bireysel IgE yanıtı düzenleyici eksiklikler, hormonlar, bakteriyel ve viral enfeksiyonlar ve diğer potansiyel adjuvanlar ve maruz kalmanın türü ve yoğunluğu gibi diğer faktörler göz ardı edilemez (Bir). Bu çıkarımlar göz önüne alındığında, bölgeye yönelik mutajenez ile uzaklaştırılan IgE epitoplarına sahip rekombinant alerjenler, gelecekteki çalışmalar ve daha etkili alerji immünoterapisi için faydalı araçlar olabilir (Bufe 1998).

2.3.4 Alerjen üretiminin fizyolojisi

Yumurtlama, lateral sebum salgısı (membran geçirgenliğini ve feromon salgısını etkiler) ve dışkı çıktısı, akarların yiyecek salgılaması veya salgılaması (guanin salgılaması dahil) için üç yoldur. Lateral bez salgılarının bir alerjen kaynağı olduğu gösterilmemiş olsa da, kimyasal yapıları hakkında daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. En iyi bilinen alerjenlerden biri, sindirime dahil olabilen bir proteazdır (Der p I). Pürin sindiriminin ve atılımının nihai sonucu guanindir (keneler belirli bir belirteç olarak kullanılabilir). Çeşitli iç ortamlardaki fındık akarı dışkısının kimyası hakkında daha fazla bilgi yardımcı olacaktır (Chua *et al.* 1988).

2.3.4.1 Akar sayılarının kontrolüyle ilgililik

Kontrol önlemleri ile ilişkili olabilecek kenelerin çeşitli fizyolojik süreçleri incelenmiştir (Nihoul 1993, Oliveira *et al.* 2007, Warner *et al.* 2000), bunlar arasında jüvenil hormonlar, feromonlar (korku) ve mantar beslenme bozuklukları bulunur. Ayrıca, X-ışını sterilizasyonu. Bu yöntemler şimdiye kadar umut verici sonuçlar vermemiştir (Mueller *et al.* 2010). Feromonlar çok pahalı ve hormonlardır ve mantar büyümesini teşvik etme stratejileri, mantar alerjenlerinin sayısını artırmak açısından zararlı olabilir.

X-ışını ile sterilize edilmiş erkek kenelerin kullanımı uzun vadeli avantajları garanti etmez çünkü keneler kısa ömürlüdür (yaklaşık 3 ay) ve sıklıkla giysilerde ortaya çıkar. Akarların üreme için mantara bağımlı olması nedeniyle, bir Acaridae olarak natamisin (bir makrolid mantar ilacı) kullanılmıştır. Pestisitleri, akarisitleri veya diğer kaçınma

önlemlerini kullanırken, bu teknikleri akılda tutmak ve akar türleri arasındaki olası duyarlılık farklılıklarını not etmek çok önemlidir.

2.3.4.2 Biyoloji

Laboratuar verileri oturma odasında alınan gerçek ölçümlerle karşılaştırıldığında, havadaki nemin genellikle akar büyümesi için sınırlayıcı faktör olduğu açıktır (Platts-Mills *et al.* 1987). Zengin ülkelerdeki çoğu ailenin, yiyecek eksikliği ve sıcak bir ortam nedeniyle kenelerin üreyebileceği en az bir habitatı vardır. Akarların birincil besin kaynağı deri pulları ve/veya deri pulları üzerinde gelişen mantarlar gibi görünmektedir, ancak bunlar çeşitli başka gıdalarla da beslenebilirler. Sıcak psillid kenelerde viral veya bakteriyel hastalıklar incelenmemiş olmasına rağmen, kene kültürlerinde aşırı mantar üremesinin zararlı sonuçları belgelenmiştir. Cheyletidae veya Gamasina gibi diğer keneler piroglif keneleri avlar, ancak bu türler evdeki piroglif kene popülasyonlarını kontrol etmede etkisizdir (Platts-Mills *et al.* 1987).

2.3.5 Rekombinant ve yerli ev tozu akarı alerjenleri

Mükemmel bir rekombinant alerjenin birkaç özelliği vardır: Etkili bir rekombinant alerjen, doğalına kıyasla IgE'ye bağlanabilmeli, spesifik T hücrelerini uyarabilmeli ve spesifik bazofilleri degranüle edebilmeli ve ayrıca laboratuvar hayvanlarında IgE reaksiyonları ve insanlarda kutanöz reaksiyonlar ortaya çıkarabilmelidir. Eş değer (Marsh *et al.* 1988). Önceki araştırmalar, miktar, adil fiyatlandırma ve kalitenin etkilenmediğini göstermiştir. Rekombinant alerjen kombinasyonlarının içeriği uygun şekilde belirlenebilir ve bu moleküller daha basit bir şekilde standardize edilebilir (Chapman *et al.* 1997).

Rekombinant alerjenler ayrıca, alerjik reaksiyonları tetikleyen spesifik alerjik bileşenlerin tanımlanmasına yol açan spesifik IgE profilini incelemeyi mümkün kılar. Bu, hastanın izlenebilen reaktivite profilinin anlamıdır. Sonuç olarak hasta, alerji profiline göre ilaçlarını değiştirebilecek ve ayrıca yeni alerjen duyarlılığını veya farklı alerjenlere karşı reaktivite azalmasını izleyebilecektir. Rekombinant alerjenler ayrıca

türevler veya varyasyonlar oluşturmak için değiştirilebilme avantajına da sahiptir. Alerjik aktivite azalır (Kraft *et al.* 1999). Bu, immünoterapi sırasında rekombinant hipoalerjenik türevin yan etkilere veya alerjiye neden olma olasılığının daha düşük olduğu anlamına gelir (Chapman *et al.* 1997).

Yan etkilerin veya alerjik reaksiyonların olma ihtimali var. Ev tozu akarı alerjenlerinin birçok rekombinant proteini yapılmıştır ve bunların büyük çoğunluğu IgE antikorları ile doğal alerjenlerin yaptığı gibi reaksiyona girer. Bir araştırmaya göre, Der f 2'ye ek olarak doğal RAST, Der f 1 seviyeleri, "ayrıca rekombinant analog rolleri" ile yüksek oranda ilişkilidir (Noguchi *et al.* 1996).

Rekombinant ve doğal alerjenlerin IgE bağlama yetenekleri yaklaşık olarak eşittir, doğal proteinler ise rekombinant proteinlerden biraz daha fazla RAST reaktivitesine sahiptir. Doğal alerjenlerin saflaştırılması ve biyolojik aktivitelerini rekombinant alerjenlerinkiyle karşılaştırmak için çalışmak, bilimsel araştırma ve tedavide sıkça bahsedilen rekombinant alerjenlerin kullanımına sağlam bir temel oluşturmak için elbette önemlidir. Doğal alerjen özelliklerinin yanı sıra bunların rekombinant analoglarının klonlanması ve ifadesi, ev tozu akarı araştırmalarına yönelik bütünsel bir yaklaşıma dahil edilmelidir (Pauli 2000).

Son on yılda, çok sayıda rekombinant alerjen oluşturmak için moleküler biyoloji teknikleri kullanıldı ve erişilebilir rekombinant alerjenlerin sayısı artıyor. Bu keşif sonucunda çeşitli ev tozu akarı türlerindeki alerjenik bileşenler keşfedilmiş ve tanımlanmıştır. Bt, Dp ve Em gibi bu alerjenler, en yaygın ev tozu akarlarının moleküler klonlanmasıyla keşfedilmiştir. Dermatophagoides alerjenlerinin çoğu (Pyroglyphidae'den) klonlanmıştır ve bunların bir kısmı hem bakteri hem de maya hücrelerinde rekombinant proteinler olarak üretilmiştir (Lynch *et al.* 1997, Kraft *et al.* 1999).

Tek bir alerjen "veya Em'den Eur m 1 olarak adlandırılan" 1990'ların başında keşfedildi ve Der p 1 ile yüzde 85'lik bir seri eşleşmesiyle sonuçlandı (Kent *et al.* 1992). Ev tozu akarı alerjenlerinin çoğu 10-70 kDa moleküler ağırlığa sahip olmasına rağmen, Mag 3

177 kilodalton moleküler ağırlığa sahiptir. Birçok çapraz reaktivite deneyinde, Dermatophagoides türleri, Lepidoglyphus destructor (Glycyphagidae familyasından) ve Bt gibi yaygın olmayan alerjenler alerjen olarak kullanılmıştır (Smith *et al.* 2001). Bt'den blot beş (moleküler ağırlık: 14 kDa) klonlandı ve Dp'den Der p beş'e (MW: 14 kilodalton ile) yüzde 43 benzerlik ile bir rekombinant protein olarak üretildi.

Bronşiyal alerji hastalarından alınan serumların %69'unda proteine karşı IgE antikorları vardı, bu da rekombinant proteinin önemli bir alerjen olduğunu gösteriyordu. Araştırmacılara göre, tropikal iklimlerde yaşayan bronşiyal alerjisi olan kişiler için Bt alerjenleri farklı bir duyarlılık kaynağıdır (Arruda *et al.* 1997).

Caraballo ve meslektaşları tarafından 1998'de Bt-M'nin Blo t beş'in C-terminal bölümü olduğu ve Der p 5 ile çok fazla çapraz reaktiviteye sahip olduğu keşfedildi. IgE-bağlanması, Bt11a'nın %50'sinde bulundu. Puerta ve meslektaşlarına göre (1996) hayati öneme sahip bir alerjendir. Caraballo ve meslektaşlarının durumunda, bu, bir Bt6-cDNA'nın alt klonlanmasını ve dizilenmesini içeriyordu. Yüzde 11 IgE reaktivitesini doğrulamak için, 14.8 kDa'lık 130 amino asit proteini alerjisi olanların serumlarında test edildi (Caraballo *et al.* 1997, Caraballo *et al.* 1998).

Blot 13, daha iyi tanımlandıktan sonra Bt6'ya verildi. Bu alerji, sitozolik lipid transfer proteini (cLTP) ailesi ile bir diziyi paylaşır, bu da onu bir yağ asidi havuzlama aktivitesine sahip ilk kene kaynaklı alerjen yapar. cLTP'lerin yüksek oranda korunmuş yapısı ve temel biyolojik işlevleri nedeniyle, diğer kene türlerinin Blo t13'e homologları olması beklenir; cLTP'lerin yüksek oranda korunan yapısı ve önemli biyolojik işlevleri nedeniyle, diğer kene türlerinin Blo t13 ile homologları olması muhtemeldir (Puerta *et al.* 1999).

Yi ve meslektaşları, yeni bir Bt alerjeni olan Blot 10'un tanımlanmasını ve dizilişini tanımladılar. Tropomiyosin söz konusu alerjendir ve on akar alerjeni seti ile amino asit kimliği (Der p 10 gibi) %96 kadar yüksektir. Tropomiyosin, çeşitli omurgasız türlerinde bulunan bir kas proteinidir ve önemli bir alerjenik bileşendir. Blot 10 ve Der p 10 da incelendi ve araştırmacılar, çok muhafazakâr olmalarına ve birbirleriyle önemli ölçüde

çapraz reaktivite göstermelerine rağmen, farklı IgE epitopları içerdiğini keşfettiler. Bu iki ev tozu akar türünün baskın olduğu yerlerde ev tozu akarlarının sestizasyonunun teşhisinde her iki alerjen de dikkate alınmalıdır (Yi *et al.* 2002). Blot 1 olarak adlandırılan grup 1'den rekombinant Bt alerjenleri klonlandı ve eksprese edildi (Mora *et al.* 2003).

Ev tozu akarı sistein proteazı Der p 1, Der f 1 ve Eur m 1 de yüzde 35 aynıdır. Bt-pozitif hastalardan alınan serum ile bu rekombinant Bt proteininin testleri, %62'lik IgE reaktivitesini ortaya çıkardı. Bt aşırı duyarlılığı, ev tozu akarlarında bulunan en yaygın alerjen olan rBlot t 1 testi yapılarak teşhis edilebilir (Ramos *et al.* 2001).

Yakın zamanda grup 3 ev tozu akarı alerjenlerine karşılık gelen Bt cDNA'nın klonlandığı ve moleküler olarak karakterize edildiği bildirildi. Bt2-3 klonu, moleküler ağırlığı 27.5 kDa olan bir 231-amino asit kalıntısı olgun proteini kodlar ve diğer kene türevli serin proteazlarla yüksek dizi benzerliği (%48-54) gösterir (Tripsine benzer proteaz). Çok sayıda omurgasız paramiyozinine benzerlik gösteren bir Bt alerjeni olan Imprinted 11, başka bir Bt alerjenidir. Astım hastalarının yüzde 52'sinde seropozitif olan bu hastalar, potansiyel olarak önemli alerjik aktiviteye sahiptir (Ramos *et al.* 2001).

2.3.6 Ev tozu akarı alerjisinin tedavisi

Bilim adamları, son on ila on beş yıldır HDM alerjisini tedavi etmek için yenilikçi stratejiler üzerinde çalışıyorlar. Alerji semptomları çeşitli ilaçlar kullanılarak azaltılabilir. Bu ilaçlar ise süresiz olarak kullanılmalıdır. Birçoğunda "hastanın günlük performansını bozabilecek" bir yan etki olarak uyuşukluk vardır, daha fazla etkileyen ve uyuşukluğa neden olmayan diğer ilaçlar daha pahalı olsalar bile reçete edilmelidir. Evde korunma ve kontrol tedbirlerine kesinlikle uyulmalı ve bu yöntemler uygulanabilir. Bir başka popüler önleyici tedavi, immünoterapi veya duyarsızlaştırma için ev tozu akarı alerjenlerinin kullanılmasıdır. Hastaya, idame dozuna ulaşılana kadar akar dozu kademeli olarak artırılarak bir ila dört yıl süreyle enjekte edildi (Vona 1997).

İşlemin amacı, hastanın bağışıklık sisteminin akar alerjenlerine karşı toleransını kademeli olarak arttırmaktır. İmmünoterapi başarılı bir tedavidir, ancak bilimsel çalışma, çalıştığı spesifik mekanizmanın henüz bilinmediğini göstermektedir. IL-4, IL-5 ve interferon-gama (IFN-g) dahil olmak üzere belirli inflamatuar sitokin alerjenlerinin toplam üretimi, immünoterapiden sonra azalır (O'brien *et al.* 1997). TH1 benzeri tepkilere karşı alerjik bağışıklık tepkisi (yani immünolojik müdahale), periferik T hücresi tepkisi (enerji) eksikliği veya alerjene reaktif lenfositlerin olası yokluğu, tümü TH2 benzeri reaksiyonların örnekleridir. Etkilidir, ancak yalnızca semptomlardan ziyade alerjik nedenleri ele alma avantajına sahiptir, bu da alerjik reaksiyonların ortadan kaldırılmasına veya önemli ölçüde azalmasına neden olur. Kapsamlı bir araştırmaya göre, immünoterapi ev tozu akarı alerjileri için en iyi tedavi teknikleridir. Bununla birlikte, ev tozu akarı özütünün kullanılmasının, alerjik reaksiyon (şiddetli bir alerji) (Tepki hastalığı) riski de dahil olmak üzere bir takım sakıncaları olduğu keşfedilmiştir. Hayatı tehdit eden alerjik reaksiyonlar, çok düşük dozlar zamanla azalıyor gibi görünse bile; akar ekstraktlarındaki alerjen ve alerjen olmayan maddelerin dengesinin standardize edilmesi (Valenta ve Vrtala 1999).

Ekstraksiyon prosedürü, saklama koşulları ve bazı alerjilerin hepsinin ekstraktın kalitesi üzerinde etkisi vardır. Akar özlerinde yeterince temsil edilmemesi ve hatta bozulması bile mümkündür (Valenta *et al.* 1998). Öz, alerjenin kaynağını belirlemenize yardımcı olabilir, ancak hastanın hangi moleküllere alerjisi olduğunu veya o alerji için hangi düzeyde IgE'ye sahip olduğunu söyleyemez. Ev tozu akarı alerjilerinin günümüzdeki tanı ve tedavisinde orijinal akar ekstrelerinin kullanımı öncelikli olarak kullanılmaktadır. Reaktif özelliklere dayalı tedavileri teşhis etmek ve geliştirmek daha başarılı bir stratejidir. Bu teknik, alerjen bileşenlerini, özellikle akarları tespit edebilir. Hastalığa neden olan hastalık ve bu bozukluklar için IgE seviyesinin belirlenmesi. Bu senaryoda rekombinant alerjenlerin tasarımı ve bulunabilirliği kritik öneme sahiptir.

2.4 Toz Akarlarının Neden Olduğu Astım

Ev tozu akarları, dünya çapında atopik duyarlılık ve alerji hastalığının önde gelen nedenidir. En alerjik toz akarları şunlardır: Dermatophagoides pteronyssinus,

Dermatophagoides farinae, Euroglyphus maynei ve Blomia tropikalis, Arachnid sınıfının sekiz ayaklı üyeleridir. Yaklaşık 3 aylık varoluşlarının yumurta, larva, protonimf, tritonimf ve yetişkin aşamaları görülebilir ve yetişkinlerin boyutu bir milimetrenin dörtte biri ila üçte biri kadardır. Toz akarlarının bölgesel ve mevsimsel dağılımları, uygun neme olan ihtiyaçlarından etkilenirken, ışığı sevmemeleri alt tabakalar içindeki dağılımlarını etkiler (Miller 2018).

Toz akarı alerjeni içeren partiküller, göz, burun, alt solunum yolları, cilt ve mide epiteliyle temas ederek birden fazla organda hassasiyet ve atopik semptomlar üretebilir. Akar duyarlılığı ve maruziyetinin neden olduğu klinik problemler arasında rinit, sinüzit, konjonktivit, astım ve atopik dermatit bulunur. Karides veya salyangoz gibi çapraz reaksiyona giren kabukluların yutulması veya akarlarla kontamine gıdaların istenmeden yutulması da sistemik alerji reaksiyonlarını tetikleyebilir. Önemli bir alerjen kaynağı olarak ani rollerine ek olarak, toz akarları genel olarak atopi ve alerji duyarlılığının doğası hakkında fikir verir (Miller 2018).

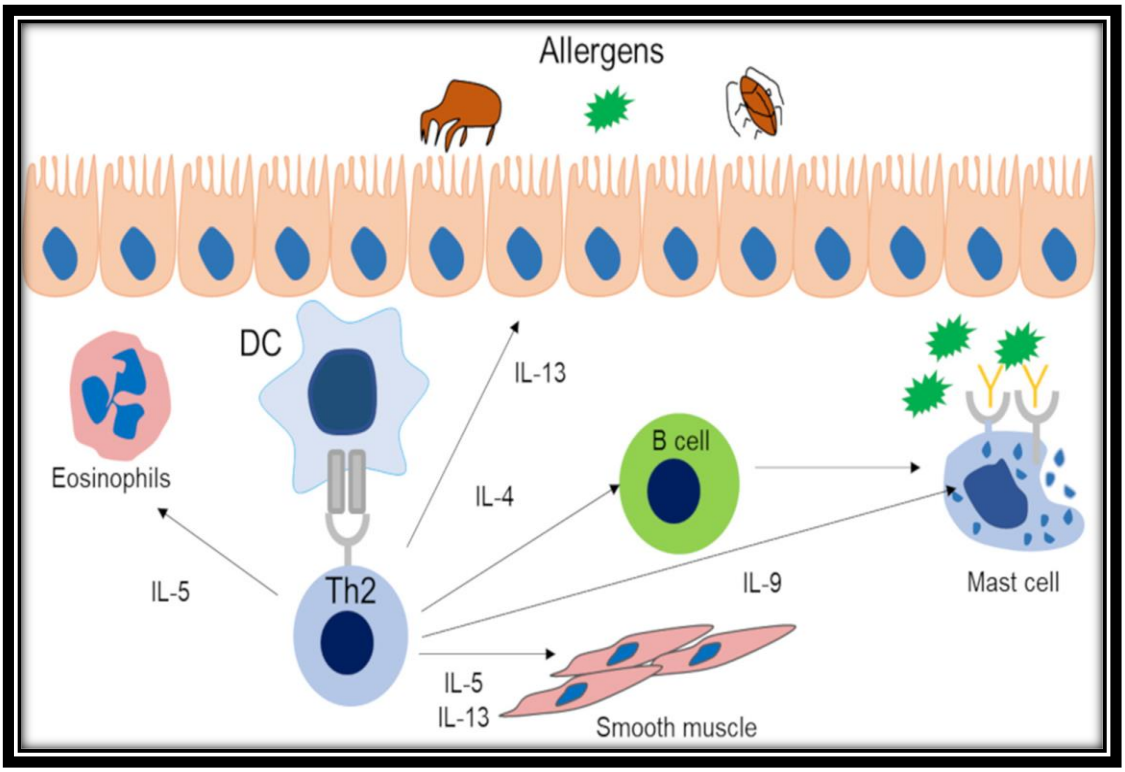
Son yıllarda HDM alerjenleri, konakçı bağışıklık sistemi ve hava yolları arasındaki bağlantıya ilişkin kapsamlı araştırmalar görülmüştür. Dermatophagoides pteronyssinus aeroallerjen aşırı duyarlılığı, astımlı atopik duyarlılığın yüzde 50-85'inden sorumludur (Sanchez-Borges *et al.* 2017, Calderon *et al.* 2015, Gregory *et al.* 2011).

Genetik yatkınlığa ek olarak akar duyarlılığı ve maruziyeti astım gelişiminin temel belirleyicileridir. Akar alerjenine maruz kalmanın bir sonucu olarak, astımı ve toz akarı duyarlılığı olan hastalarda bronkospazm ve bronş hiperreaktivitesi şiddetlenirken, akarsız bir ortamda semptomlar hafifler (Platts-Mills and Chapman 1987, Arlian and Platts-Mills 2001, Thomas 2012).

Kliniklerde HDM'ye maruz kalma ve duyarlılaşma düzeylerinin astımın iyi bir göstergesi olduğu gerçeği, HDM ile astım arasındaki bağlantıyı daha da desteklemektedir (De Alba *et al.* 2010, Birrell *et al.* 2010). Ek olarak, akar duyarlılığı, maruz kalma ve solunum yolu virüsü enfeksiyonunun etkileşimi durumu kötüleştirir ve akut hırıltı ve hastaneye yatışların başlıca nedenidir (Soto-Quiros *et al.* 2012, Murray *et*

al. 2006, Green *et al.* 2002). HDM ve astımı ilişkilendiren diğer kanıtlar, HDM alerjenlerinin solunmasının bronşiyal düz kas proliferasyonuna neden olduğu gerçeğini ve astımlıların balgamında HDM'ye özgü IgE'nin saptanmasını içerir (Trian *et al.* 2015, Mouthuy *et al.* 2011).

HDM'ler, Ev Tozu Akarlarında bulunan 30'dan fazla alerjenden sadece dördünün proteaz olmasına rağmen, proteaz aktivitesi, immünojenisite ve doğuştan gelen bağışıklık sisteminin uyarılması ile tanımlanır (Jacquet *et al.* 2020). Lipopolisakkarit (LPS), -glukan ve kitin de HDM'lerin bileşenleridir (Gregory *et al.* 2011). Yukarıdakilere dayanarak, HDM'lerin çeşitli bileşenlerinin bağışıklık sistemini tetiklediği görülmektedir. HDM'lerin alerjenik etkileri, son teknik gelişmeler sayesinde tespit edilmiştir. Alerjenlerin iki biyolojik eylemi olan proteoliz ve peptit-lipid/lipid bağlanması, IgE üretir ve ilgisiz alerjenlere karşı seyirci tepkilerini tetikler (Jacquet *et al.* 2020) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3 Astım hastalarında Th2 lenfositler yoluyla tip 2 immün yanıt (Yasuda *et al.* 2020)

2.5 Astım Patofizyolojisinde Sitokinlerin Rolü

Pleiotropik sitokinler, astımın aralıklı hava yolu inflamasyonunu, bronşiyal düz kas hiperreaktivitesini ve bronş daralmasını yöneten bir grup yeni aracıdır. Astımın patofizyolojik yönlerinin, klinik öncesi ve klinik bulgulara göre sitokinlerin ve kemokinlerin anormal proliferasyonundan geldiği varsayılmaktadır. Sitokinler, çeşitli hücreler tarafından üretilen küçük hücre dışı sinyal proteinleridir ve fazlalıkları ve pleiotropik nitelikleri, çok çeşitli biyolojik işlevleri yerine getirmelerine izin verir. Hem doğuştan gelen hem de adaptif bağışıklık tepkileri, düzgün işlev görmeleri için onlara güvenir. Sitokinler ve reseptörleri birbirlerine karşı güçlü bir çekime sahiptir. Pimolar miktarlardaki sitokinler, yüksek afinitelerinden dolayı biyolojik bir etkiye sahip olabilir. Lenfokinler, proinflamatuar sitokinler, inhibitör sitokinler ve büyüme faktörleri sitokinlerin dört ana tipidir. Astımın patofizyolojisi hala tam olarak anlaşılamamıştır ve nedeni bilinmemektedir. Bu derleme, bu temele dayalı olarak astım patofizyolojisindeki her bir sitokinin üretimi, salınımı ve fonksiyonel önemine odaklanacaktır (Mahajan and Mehta 2006).

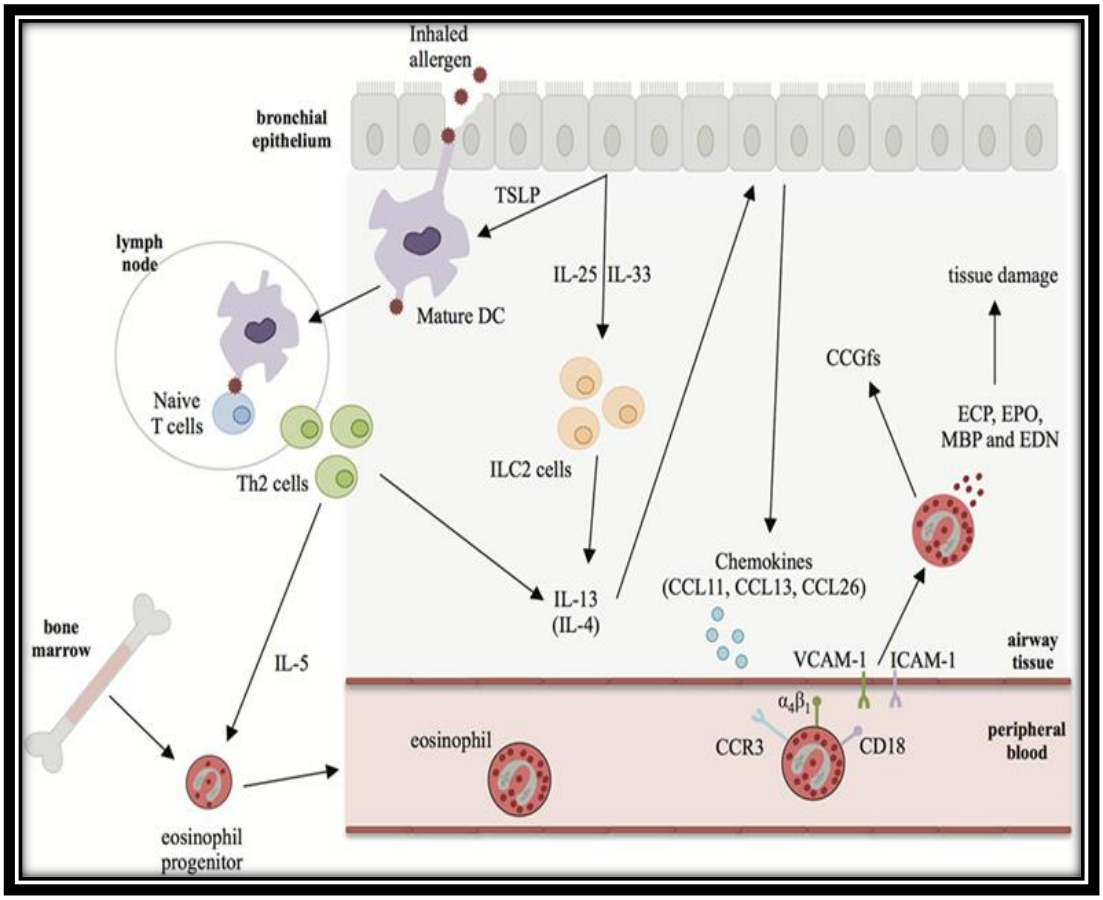
2.5.1 İnterlökin 13

Klinik ve fizyolojik çalışmalar astımı ödemin neden olduğu hava yolu daralmasına ve çok sayıda inflamatuar hücrenin hava yolu lümen duvarına infiltrasyonuna bağlamıştır. Bu hücreler eozinofilleri, mast hücrelerini, IgE üreten plazma hücrelerini ve Th2 lenfositleri olarak bilinen aktive edilmiş T hücrelerinin bir alt grubunu içerir. Bu hücresel reaksiyonların temel fizyolojik işleyişinin tam olarak bilinmemesine rağmen, havacılık yolu içindeki bu hücreler arasındaki antijene tepki olarak karmaşık etkileşimler, sitokinlerin ve diğer provakatif proteinlerin yaratılmasında tam bir döngü oluşturur; bu durum. IgE üretimi, goblet hücre hiperplazisi, aşırı mukus salgısı, hava yolu aşırı duyarlılığı, fibrozis ve kitinaz yukarı regülasyonunun tümü interlökin-13 tarafından düzenlenir (Rael and Lockey 2011).

2.5.1.1 İnterlökin 13'ün astımdaki rolü

IL-13, anti-inflamatuar etkilere sahip olmasına rağmen, büyük ölçüde havacılık yolu rahatsızlığının ilerlemesiyle bağlantılıdır. Havacılık rotaları içinde, IL-13 ağ metalloproteinazları (MMP'ler) olarak bilinen bir protein bozundurucu kimyasallar ailesini harekete geçirir. Bu proteinler, parankimal ateşli hücrelerin, tahliye edildikleri havacılık yolu lümenine saldırmasına neden olmak için esastır. IL-13, diğer şeylerin yanı sıra, bu MMP'leri, boğulmaya yol açabilecek aşırı olumsuz duyarlı tahrişe karşı bir savunma aracının parçası olarak üretir (Minty *et al.* 1993).

Eozinofil sağkalımı, aktivasyonu ve işe alımının tümü interlökin-13 ile bağlantılıdır. Rekombinant IL-13 ile tedavi edilen eozinofillerin in vitro kültürleri, apoptoz inhibisyonuna atfedilen, hayatta kalmada doza bağlı bir artış gösterdi. Eozinofiller, bir otokrin yolağın aracılık ettiği IL-3 ve GM-CSF'yi uyardı veya serbest bıraktı. Astımlı hava yolunda, IL-13'ün (ve IL-4'ün) ana işlevlerinden biri, yaralanma bölgesine eozinofil kemotaksisine neden olmaktır. IL-13 ile indüklenen kemotaksi ve eozinofil aktivasyonu, çeşitli araştırmalarda in vitro olarak incelenmiştir (Rael and Lockey 2011) (Şekil 2.4).



Şekil 2.4 Astımda eozinofiliyi tetiklemede interlökin (IL)-13'ün rolü (Doran *et al*. 2017)

2.5.2 İnterlökin 9

İnterlökin 9 (IL-9), interlökin ailesine ait bir pleiotropik sitokindir (hücre sinyal molekülü). IL-9, mast hücreleri, NKT hücreleri, Th2, Th17, Treg, ILC2 ve Th9 hücreleri dahil olmak üzere bir dizi hücre tarafından değişen seviyelerde üretilir. Th9 hücreleri, aralarında IL-9 üreten en yaygın CD4+ T hücreleridir (Perumal and Kaplan 2011).

2.5.2.1 İnterlökin 9'un astımdaki rolü

Ödem kaynaklı hava yolu daralması ve birçok enflamatuar hücrenin hava yolu lümen duvarına infiltrasyonu, klinik ve fizyolojik çalışmalarda astımla ilişkilendirilmiştir. Eozinofiller, mast hücreleri, IgE üreten plazma hücreleri ve Th2 lenfositleri olarak

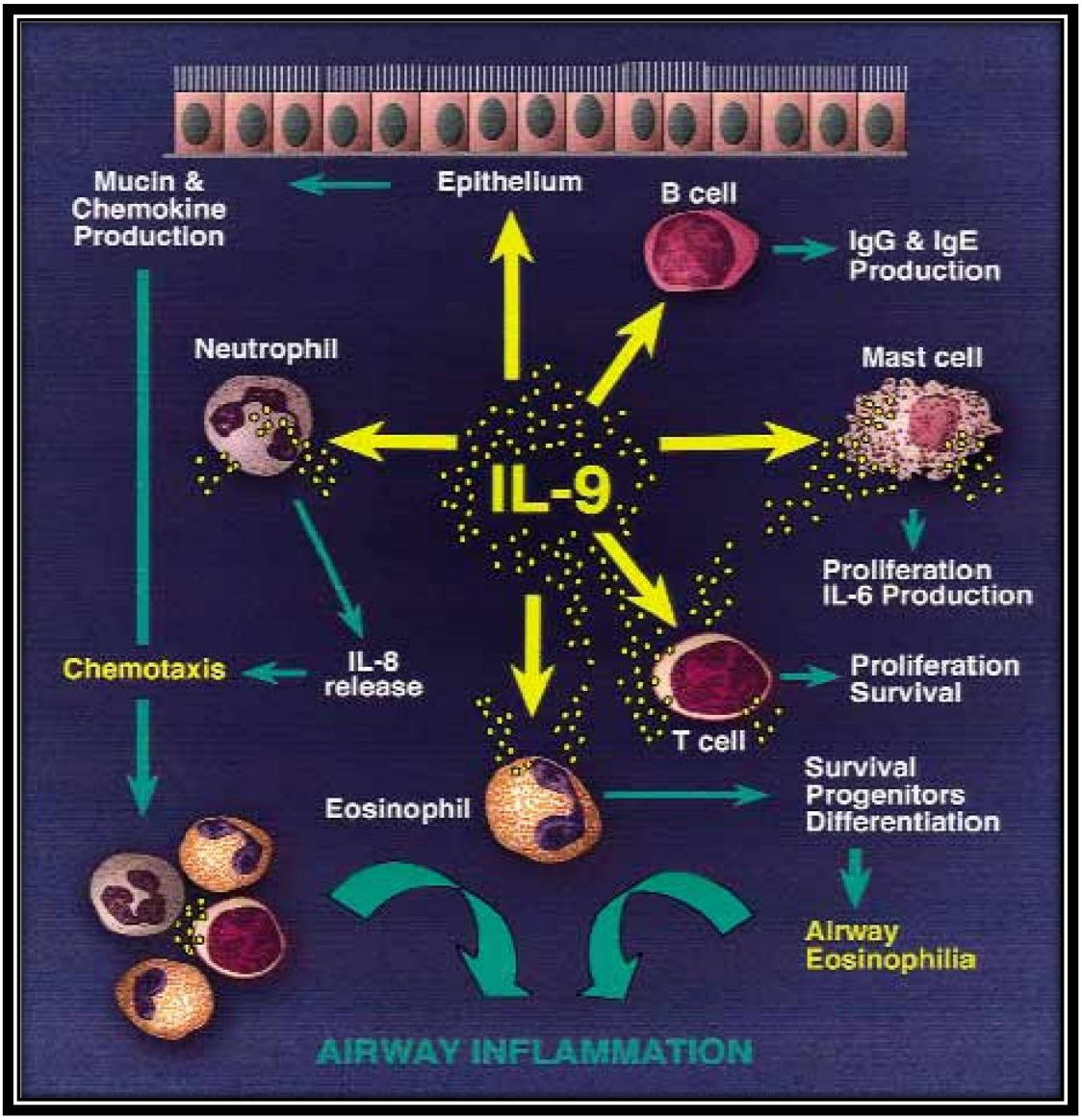
bilinen aktive edilmiş T hücrelerinin bir alt grubu bu hücreler arasındadır. Bu hücresel reaksiyonların temel fizyolojik işleyişinin kesin olarak bilinmemesine rağmen, bu hücreler arasındaki antijene yanıt olarak havacılık yolu içindeki karmaşık etkileşimler, sitokinlerin ve diğer provokatif proteinlerin yaratılması içinde tam bir çember oluşturur ve bu durumda kimyasal iletişimi çok önemli hale getirir (Holgate *et al.* 1995). Bu gelişmelere rağmen, atopik astımın etiyolojisi bir sır olarak kalmaktadır. Atopik astıma yatkınlık büyük olasılıkla multigeniktir. Alerjik ve inflamatuar yanıtlarda IgE ve diğer sitokinlerin önemi ve ayrıca alerjik ve inflamatuar yanıtlardaki biyolojik değişkenlik, yapısal ve fonksiyonel genetik değişkenlik için potansiyel genlere yönelik araştırmaları motive etmiştir. İnsanlarda 5q31-q33 kromozomunda, yakın zamanda önemli bir astım geni tanımlandı (Banks-Schlegle 1997, Postma *et al.* 1995).

Astım, hava yolu aşırı duyarlılığı ve alerjilerden sorumlu gen(ler) henüz keşfedilmemiş olsa da, 5q31q33'ün bir füzyon geni olduğu veya farenin 11, 13 ve 18. kromozom bölgeleriyle bir kromozomal yapı paylaştığı bilinmektedir (DeBry and Seldin 1996). Atopik astım ile ilgili havacılık yolu alevlenmesi içinde bir parçası olabilecek, kromozom 5q31-q33 üzerinde sitokinler, gelişim bileşenleri ve gelişim hesaplama reseptörleri gibi çeşitli kalite adayları bulunur. IgE seviyelerine kadar eklenen log serum ile bu kalitedeki bir belirteç arasındaki bağlantı dengesizliğine dayanarak, interlökin 9 (IL-9) akla yatkın bir aday olarak önerildi (Doull *et al.* 1996).

Kromozom 13'ün sintenik lokasyonunu haritalayan subjektif bir lokusun (nitel özellik lokusu QTL olarak adlandırılır), düşük yanıtlı C57BLy6J (B6) ve aşırı duyarlı DBAy2J (D2) fareler arasındaki bronş yanıtındaki önemli farklılıkların belirlenmesinde bir rolü olduğu görülmektedir. IL-9'u kaliteli bir aday olarak gören bir test muayenesinin bulgularına göre, bronşiyal aşırı tepkililik, B6 lokusunda genetik bir değişiklikle bağlantılı olan, IL-9 seviyelerinin oldukça düşük kararlı durumuyla bağlantılıdır.

Bu durum, bronşiyal aşırı duyarlı D2 hayvanlarının akciğerlerine kıyasla B6 farelerinin akciğerlerinde bu sitokinin azalmış seviyelerinde yansıtılmıştır. Bu bulgular, astım yanıtının kritik bir bileşeni olan bronşiyal aşırı duyarlılığın karmaşık etiyolojisinde IL-

9'un uygun bir aday olduğunu düşündürmektedir. Şekil 2.5, alerji bozuklukları ile bağlantılı enflamatuar hücrelerde IL-9'un düzenleyici rolünü göstermektedir.



Şekil 2.5 Hava yollarında alerjik inflamasyon sırasında IL-9'un potansiyel rolü (Soussi-Gounni *et al.* 2001)

2.5.3 Tümör nekroz faktörü TNF

TNF, geniş bir proinflamatuar etki yelpazesine sahip olan tümör hücrelerinin nekrozunu (ölümünü) indükleyebilen çoklu proteinlerden biridir (Akoğlu vd. 2008). TNF, lipid sindirim sistemi, pıhtılaşma, hakaret direnci ve kan damarlarını kaplayan endotel hücrelerinin çalışması üzerinde etkileri olan çok işlevli bir sitokin olabilir. TNF, hücre

sinyallemesi için güvenli çerçeve tarafından kullanılır. Makrofajların bir kontaminasyon tanımlaması durumunda, ateşli bir reaksiyonun parçası olarak diğer dirençli çerçeve hücrelerini uyarmak için TNF'yi boşaltırlar. TNF, homolog bir TNF boşluğuna sahip farklı transmembran proteinlerinden oluşan TNF süper ailesinin bir parçası olabilir (Heir and Stellwagen 2020).

2.5.3.1 Astım ile tümör nekroz faktörü ilişkisi

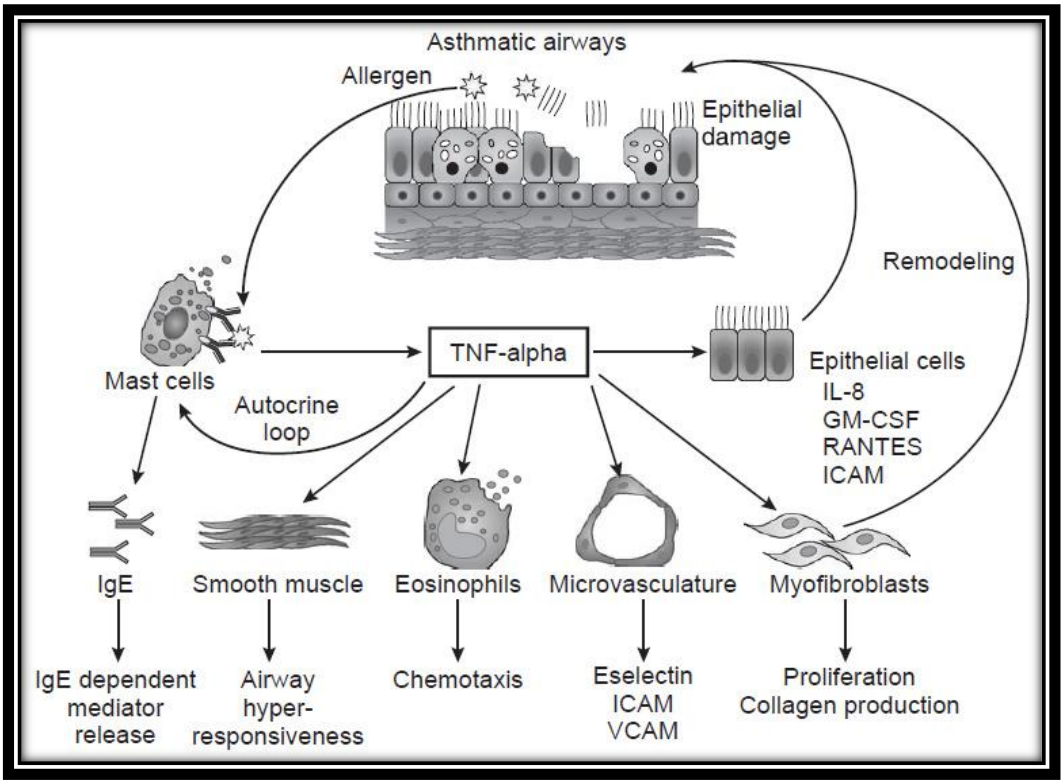
Astım, interlökin 4 (IL4) ve interlökin 5 (IL5) sayıldığında net bir sitokin deşarj profiline sahip bir tür 2 (Th2) T aide enfeksiyonu olarak kabul edilir. Olabildiğince, geleneksel olarak Th1 sıralama aralığında bir yeri olduğu düşünülen diğer sitokinlerin, ayrıca insan astımının yangın çıkarıcı reaksiyon özellikleriyle ilişkili olduğu giderek daha fazla kanıtlanıyor. Bunlardan biri, farklı in vitro, in vitro, in vivo ve kalıtsal değerlendirmelere bağlı olarak astım tahrişiyle ilişkili olan TNF-a'dır. Havacılık rotasının aşırı duyarlılığını genişlettiği ortaya çıktı (Thomas *et al.* 1995).

Havacılık rotası düz kasının bu aşırı dokunuş tepkisi, yangın çıkaran hücrelerin kaydı, havacılık rotası düz kası üzerindeki etkileri koordine etmek veya genişlemiş histamin seviyeleri nedeniyle sayılan, araların boşaltılmasından sonra alınan yanıcı tepkilerin bir düzenlemesinin iyileştirilmesi ile ilgili olabilir. Dağıtım (Anticevich *et al.* 1995, Shah *et al.* 1995). TNFa'nın da basit kas eotaksin inovasyonunda ve insan havacılık rotası basit kasından emisyonda (IL1B'nin yanında) bir patlamaya neden olabilmesi, eotaksinin esasen astımlı havacılık rotası kasında denenmesiyle, bir tür boş zaman aktivitesinden biridir. TNFa, ağ metalloproteinazlarının (MMP) eozinofillerden deşarjını başlatabildiğinden ve insan akciğer fibroblastlarında glikozaminoglikanların birliğini güçlendirebildiğinden, ekstra geri dönüşümlü yeniden şekillendirme etkisine sahip olabilir (Elias *et al.* 1988).

Bu veriler, TNFA'nın gerçekleştirebileceği potansiyel çoklu işlevleri gösterir. Astımda rol oynar, düz kas duyarlılığını arttırır, miyofibroblastları ve fibroblastları aktive eder ve eozinofillerin aktivitesini düzenlemek için IL-4 ve IL-5'i kullanır. Nötrofiller astım patogenezinde giderek daha önemli bir rol oynamaktadır. Astım hastalarının nötrofilleri,

süperoksit ve onun salgılama ürünlerinin üretimini artıran gelişmiş migrasyon tepkisi gösterir, dolayısıyla bronşiyal halkanın kontraktilitesi bunu doğrular (Håkansson *et al.* 1990).

TNF polimorfizmleri üzerine birkaç otonom düşünce, bunun astımla ilişkili olduğu ortaya çıktı ve diferansiyel translasyon aktivatörleri, yükseltilmiş plazma TNFa seviyeleri ve vücutta daha yüksek TNF seviyeleri ile bilinen ilişkisi nedeniyle TNFa-308G>A üzerinde spesifik vurgu yapıldı. In vivo ve in vitro teşvik (Wilson *et al.* 1997). Artmış astım riski (12, 14, 29-31), atopik (Lin *et al*. 2002) ve bronş aşırı duyarlılığı (Moffatt and Cookson 1997). Öte yandan, TNFA-308G>A ile astım ve/veya astımla ilişkili fenotipler arasında birkaç negatif korelasyon da yayınlanmıştır (Lin *et al.* 2002). Astım hastalarında sekonder alellerin (TNFA-308A) sıklığı kontrol grubuna göre daha yüksektir. Bununla birlikte, bir çalışmada bunun tam tersi bir sonuç da bildirilmiştir (hastalarda astım insidansı daha düşüktür) (Moffatt and Cookson 1997). Birkaç bağımsız çalışma, TNFA-308G> A promotör polimorfizminin astım riski ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Albuquerque *et al.* 1998). Aygırlar önemli bir ilişki göstermez ve TNFB-252A>G intronunun polimorfizmi astımla ilişkilidir (Albuquerque *et al.* 1998). (Şekil 2.6).



Şekil 2.6 Mast hücreleri, TNF-a'nın ana kaynağıdır ve bu salıverme genellikle IgE moleküllerinin alerjen çapraz bağlanmasıyla sağlanır (Babu *et al*. 2004)

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Çalışma Tasarımı

Etik Kurul onayı alındıktan sonra, Iraklı hastalarda alerjen profilini belirlemek için Alerji Uzmanlık Merkezi'nde (Al resafa, Bağdat, Irak) akar alerjisini düşündüren belirti ve semptomlarla kesitsel gözlemsel bir çalışma yapılacaktır.

3.2 Numunelerin Toplanması

Akar alerjisi olan 100 hasta (yaş: 18-40 yaş) dikkatli bir taramadan sonra seçilecektir,ve kontrol grubu 50 sağlıklı katılımcıdan oluşmaktadır. Aynı yaş grubunu dikkate alarak. Hastalar klinikte muayene ve teşhis edilecek, yaş, cinsiyet, alerjen türü ve kaynağı bilgileri veri formuna kaydedilecektir. Akar alerjisi tanısı, sırasıyla (Akar alerjisi ve astım üzerindeki etkileri) ve GINA (Küresel Astım Girişimi) kılavuzlarına dayanacaktır.

3.2.1 Hasta seçimi

Bu çalışmanın uygulama kısmında gerçekleştirilen deneyler Irak'ın Bağdat şehrinde bulunan Alerji Uzmanlık Merkezi Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. İç Hastalıkları ve Kulak Buran Boğaz Klinikleri tarafından Alerji Uzmanlık Merkezi Alerji ve İmmünoloji Kliniğine yönlendirilen; Burun akıntısı, burun tıkanıklığı, hapşırma, hapşırma şikayetleri olan hastalar onamları ile çalışmaya dahil edildi.

3.2.2 Anket

Kontrol ve deney gruplarının oluşturulmasında çeşitli kriterler göz önünde bulundurulmuştur.

Deney grubu oluşturulurken gözlenen koşullar şunlardır:

-18 yaşından büyük olmak.

-Son üç ayda çalışma sonuçlarını ve yöntem uygulamasını etkileyecek üst veya alt solunum yolu enfeksiyonu gibi bir hastalığı bulunmamak.
-Herhangi bir kanser tedavisi görmemek, kemoterapi, radyoterapi gibi tedavilere katılmamak.
-Laboratuvar tanı sonuçlarını etkileyebilir; metabolik sendrom tanısı almamış, Tip - 1 ve/veya Tip - 2 Diyabet.
Obezite, sigara, uyuşturucu kullanımı gibi işi olumsuz etkileyen faktörler yoktur.
-Antihistaminik ilaçlar başta olmak üzere çalışmayı etkileyebilecek herhangi bir ilaç kullanılması mümkün değildir.
Kontrol grubu oluşturulurken gözlenen koşullar şunlardır:
-Son üç ayda çalışma sonuçlarını ve yöntem uygulamasını etkileyecek üst veya alt solunum yolu enfeksiyonu gibi bir hastalığı bulunmamak
-Herhangi bir kanser tedavisi görmemek, kemoterapi, radyoterapi gibi tedavilere katılmamak.
-Laboratuvar tanı sonuçlarını etkileyebilir; Metabolik sendrom tanısı almamış, Tip - 1 ve/veya Tip - 2 Diyabet.
-Obezite, sigara, uyuşturucu kullanımı gibi işi olumsuz etkileyen faktörler yoktur.
-Antihistaminikler veya başka herhangi bir ilaç kullanmayın.
-Akar alerjisi tanısının olmaması (Bu kontrol ve muayene klinikte uzman hekim tarafından yapılmış ve her katılımcının sağlık durumu hekim tarafından onaylanmıştır).
Deney grubunda 100, kontrol grubunda 50 hastaya çalışmamız ve deneysel uygulamalarımız hakkında sözlü ve yazılı bilgi verilmiş, her hasta ve katılımcının soruları yanıtlanmış, onam formları imzalanarak onamları alınmıştır. Ancak Başhekim Kurulu ve Kurul'dan onay alındı.

Deney ve kontrol gruplarını oluşturan her hasta ve katılımcı ile uzman bir hekim gözetiminde görüşülerek bazı konularda özel bilgiler elde edilmiştir. Bu kapsamda aşağıdaki hususlarda bilgi alınmış ve cevaplar not edilmiştir:

-Ailede alerji ve alerjik rinit öyküsü olup olmadığı.
-Alerjik rinit şikâyetinin doğası.
-Hastalığın geçmişi, oluşumu, sıklığı ve hastalığın tekrarlaması.

-Hastalığın seyri, hastalığı tetikleyen faktörler.
-Sigara, alkol ve uyuşturucu kullanımı.
-Pet besleme durumu.
-Temizlik ile ilgili sorular (kişisel ve ev temizliği).

3.2.3 Numunelerin toplanması

Aseptik koşullar altında her hasta ve kontrolden toplam 10 mL kan örneği vakumlu tüplere alınmış ve 30 dakika oda sıcaklığında spontan pıhtılaşma için bekletildikten sonra serumu ayırmak için 2500 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Toplam IgE, spesifik IgE, IL-13, IL-9 ve TNF- tahmini için serum örnekleri kullanıldı.

3.3 Yöntemler

3.1.1 Toplam IgE tahmini

Toplam serum IgE, toplam IgE ELISA kiti (Euroimmum/Alman) kullanılarak immün-enzimetrik tahlil ile belirlendi. Çizelge 3.1, bu kitte bulunan kimyasal reaktifleri göstermektedir.

Çizelge 3.1 Toplam IgE kitinin içeriği

Reaktifler	Bileşenler
Antikor kaplı mikroplaka	96 oyuklu plaka
Kalibratör 1	500 IU/mL (IgE, insan), kullanıma hazır
Kalibratör 2	100 IU/mL (IgE, insan), kullanıma hazır
Kalibratör 3	10 IU/mL (IgE, insan), kullanıma hazır
Kalibratör 4	0 IU/mL (IgE, insan), kullanıma hazır
Pozitif kontrol 1	(Yüksek IgE konsantrasyonu) kullanıma hazır
Pozitif kontrol 2	(Düşük IgE konsantrasyonu) kullanıma hazır
enzim eşleniği	Peroksidaz etiketli anti-insan IgE (fare), kullanıma hazır
seyreltici tampon	Kullanıma hazır
Yıkama tamponu	10X konsantre
Kromojen/substrat solüsyonu	TMB/H2O2, kullanıma hazır
Çözümü Durdur	0,5 M sülfürik asit, kullanıma hazır

- Prosedür

1- Tüm serumlar numune seyreltici tamponu (100µL serumdan 900µL seyrelticiye) ile seyreltildi. Daha sonra 100 µL kalibratörler, pozitif kontroller ve seyreltilmiş numuneler kuyucuklara aktarıldı, plaka oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi.

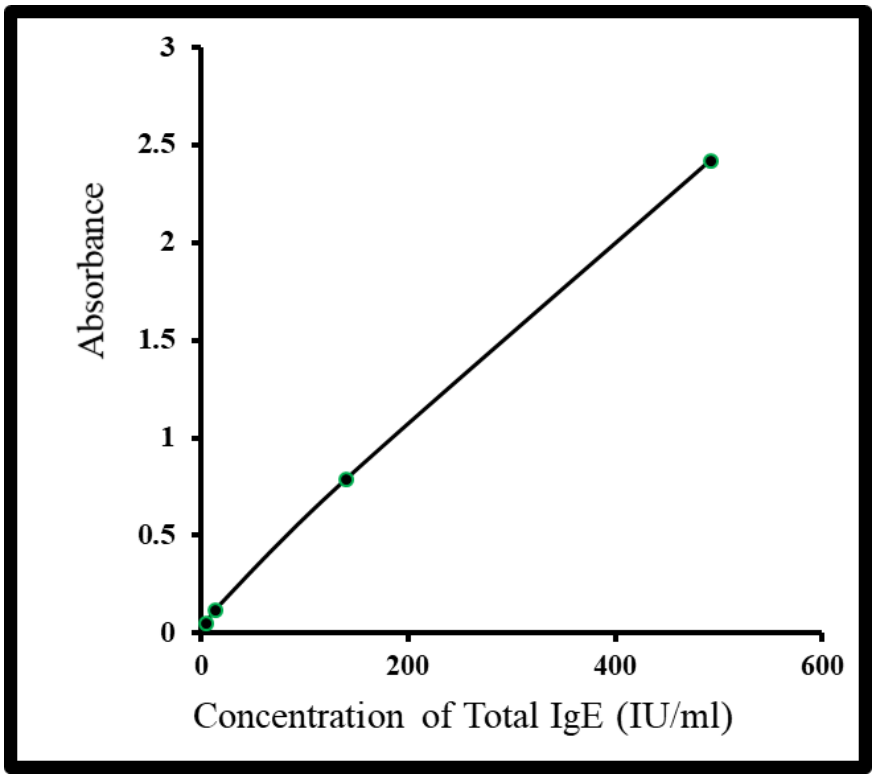
2- İnkübasyondan sonra plak üç kez tampon solüsyonu ile yıkandı, ardından her kuyuya 100 µL enzim konjugatı eklendi, oda sıcaklığında otuz dakika inkübasyon yapıldıktan sonra ELISA yıkayıcısı ile yıkama aşamasına geçildi.

3- Her kuyucuğa substrat/kromojen (100 µL) eklendi, plak oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildi. Daha sonra her kuyucuğa 100 µL stop solüsyonu eklendi.

4- Renk yoğunluğunun fotometrik analizi 450 nm dalga boyunda ve 620 ile 650 nm referans dalga boyunda 5 dakika stop solüsyonu ilave edildikten sonra yapılmıştır.

- Toplam IgE'nin Hesaplanması ve Yorumlanması

Antikor konsantrasyonu, standartların absorbansı Y ekseninde ve konsantrasyonlar (IU/mL) X ekseninde aynı grafik eğrisinde çizilerek tahmin edildi. Standart eğriden test edilen numunelerin konsantrasyonları hesaplandı. Şekil 3.1, toplam IgE'nin standart eğrisini göstermektedir.



Şekil 3.1 Toplam IgE'nin (IU/mL) kübik standart eğrisi

3.3.2 Spesifik IgE tayini

Toplam deneklerin serumunda akar alerjenine özgü IgE'nin belirlenmesi, yirmi yaygın inhale alerjeni içeren (Polycheck-Allergy Diagnostic/Germany) kiti kullanılarak tahmin edildi. Çizelge 3.2, kitin kimyasal reaktiflerini listeler.

Çizelge 3.2 Spesifik IgE kitinin içeriği

Reaktifler	Bileşenler
Çözümü Başlat	Tamponlu protein çözeltisi
Anti-IgE Antikoru	Ligand ile etiketlenmiş monoklonal (fare) antikoru
Enzim etiketli anti-ligand	Alkalen fosfataza konjuge ligand
Substrat Çözümü	5'bromo-4'kloro-3'indolilfosfat ve 4'nitromavi tetrazolyum, tamponlu
Yıkama Tamponu	Fosfat tamponu, pH 7.4

- Prosedür

1- Polycheck alerji kasetleri 1 mL yıkama tamponu ile nemlendirildi, ardından kasetler emici kağıt üzerine ters vurularak yıkanan tampon çıkarıldı. Daha sonra alerji kasetleri 250 µL Polycheck başlangıç solüsyonu ile kaplandı ve 60 saniye inkübe edildi.
2- Kasete ilgili hastanın serumundan 200 µL eklendi ve çalkalayıcıda 60 dakika inkübe edildi.
3- 1 mL Polycheck yıkama tamponu ile kasetler döküldü ve üç kez yıkandı, kasetler emici kağıt üzerine ters çevrilerek dikkatlice vuruldu. Yıkama tamponu (250 µL) eklendi ve çalkalayıcı üzerinde 5 dakika inkübe edildi. Daha sonra yıkama tekrarlandı.
4-Polycheck anti-IgE antikoru (250 µL) pipetlendi, ardından bir çalkalayıcı üzerinde 45 dakika inkübe edildi. Kasetler döküldü ve üç kez 1 mL yıkama tamponu ile yıkandı.
5- Polycheck enzim etiketli anti-ligand (250 µL) ilave edildikten sonra karanlıkta 20 dakika inkübasyona bırakıldı. Kasetler boşaltıldı ve önceki adımda olduğu gibi yıkandı.
6- polycheck substrat solüsyonu (250 µL) pipetlendi ve kasetler karanlıkta 20 dakika inkübe edildi. Bundan sonra kasetler boşaltıldı ve önceki adımda olduğu gibi yıkandı. Membran havada kurutuldu ve Polycheck alerji kasetleri, bir tarayıcı ve Biocheck Görüntüleme Yazılımı kullanılarak değerlendirildi.

3.3.3 IL-13 seviyeleri

Akar alerjisi olan astımlı hastalarda Bioassay/China ELISA kiti kullanılarak serum IL-13 seviyeleri tahmin edildi. Çizelge 3.3, kitin kimyasal reaktiflerini listeler.

Çizelge 3.3 IL-13 kitinin kimyasal reaktiflerini listeler

Bileşenler	Miktar
Standart Çözüm (6400 sayfa/mL)	0,5 mL x1
Ön Kaplamalı ELISA Plakası	12*8 iyi şeritler x1
Standart Seyreltici	3mL x1
Streptavidin-HRP	6mL x1
Çözümü Durdur	6mL x1
Substrat Çözümü A	6mL x1
Substrat Çözümü B	6mL x1
Yıkama Tamponu Yoğunlaşmak (25x)	20mL x1
biyotinlenmiş İnsan IL-13antikor	1mL x1
Kullanıcı Talimatı	1
Plaka Mühürleyen	2 resimler
Fermuarlı Çanta	1 resim

- Prosedür

1- Standart düzenlemeleri içeren reaktifler ve testler, bilgilendirme bölümlerine uygun olarak düzenlenmiştir. Son zamanlarda kullanılan bir süre, toplam reaktifler oda sıcaklığına getirildi. Deneme oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

2- Test için vital strip sayısı ayarlandı. Kullanım için şeritler ana hatlara yerleştirildi. Kullanılmayan stripler 2-8°C sıcaklıkta muhafaza edilmelidir.

3- Standart kuyuya 50 mikrolitre miktarında standart eklenmiştir (Not: Standart solüsyon biyotinlenmiş antikor içerdiğinden, antikor standart kuyuya katkıda bulunmamıştır.)

4- 40 mikrolitre numune test kuyularına dahil edildi, 10 mikrolitre anti-interlökin 13 karşıt ajanı, 50 mikrolitre streptavidin-HRP ve son olarak standart kuyucuklara 50 l

streptavidin-HRP ile alındıktan sonra (Net olmayan kontrol kuyusu). Plaka iyice karıştırılmış, bu noktada bir kapatıcı ile sabitlenmiş ve 60 dakika boyunca 37°C'de kuluçkalanmıştır.

5- Sızdırmazlık maddesi dışarı atıldıktan sonra plak beş kez yıkama tamponu ile yıkandı. Her yıkama için, kuyulara en az 0.35 mL yıkama tamponu ile 30 saniye boyunca 1 küçültücüye kadar sıçratıldı. Tüm kuyucuklar emildi ve bir süre önce bilgisayarlı yıkama için yıkama tamponu ile aşırı doldurulan yıkama tamponu ile beş kez yıkandı. Plakayı lekelemek için Kanal Kağıdı veya diğer tutucu kumaş kullanılmıştır.

6- Her kuyuya 50 mikrolitre substrat düzenlemesi A, ardından 50 mikrolitre substrat düzenlemesi B alınır. Loşluk içinde 37°C'de 10 dakika boyunca plaka kuluçkaya yatırıldı ve yeni bir kapatıcı ile sabitlendi.

7- Her kuyucuğa 50 mikrolitre Durdurma Solüsyonu verildi, bu da mavi renk tonunun neredeyse anında sarı olmasına neden oldu.

8- Durdurma düzenini uyguladıktan 10 dakika sonra, her bir kuyunun optik kalınlığı (OD değeri), 450 nm'ye ayarlanmış bir mikroplaka peruser kullanılarak ölçüldü.

3.3.4 IL-9 seviyeleri

Akar alerjisi olan astımlı hastalarda Bioassay/China ELISA kiti kullanılarak serum IL-9 seviyeleri tahmin edildi. Çizelge 3.4, kitin kimyasal reaktiflerini listeler.

Çizelge 3.4 IL-9 kitinin kimyasal reaktiflerini listeler

Bileşenler	Miktar
Standart Çözüm (6400 sayfa/mL)	0,5 mL x1
Ön Kaplamalı ELISA Plakası	12*8 iyi şeritler x1
Standart Seyreltici	3mL x1
Streptavidin-HRP	6mL x1
Çözümü Durdur	6mL x1
Substrat Çözümü A	6mL x1
Substrat Çözümü B	6mL x1
Yıkama Tamponu Yoğunlaşmak (25x)	20mL x1
biyotinlenmiş İnsan IL-9 Antikor	1mL x1
Kullanıcı Talimatı	1
Plaka Mühürleyen	2 resimler
Fermuarlı Çanta	1 resim

- Prosedür

1- Standart düzenlemeleri içeren reaktifler ve testler, bilgilendirme bölümlerine uygun olarak düzenlenmiştir. Son zamanlarda kullanılan bir süre, toplam reaktifler oda sıcaklığına getirildi. Deneme oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

2- Test için vital strip sayısı ayarlandı. Kullanım için şeritler ana hatlara yerleştirildi. Kullanılmayan stripler 2-8°C sıcaklıkta muhafaza edilmelidir.

3- Standart kuyuya 50 mikrolitre miktarında standart eklenmiştir (Not: Standart solüsyon biyotinlenmiş antikor içerdiğinden, antikor standart kuyuya katkıda bulunmamıştır).

4- 40 mikrolitre numune test kuyularına dahil edildi, 10 mikrolitre anti-interlökin 9 karşı etkili ajan, 50 mikrolitre streptavidin-HRP ve son olarak 50 l streptavidin-HRP standart kuyucuklara alındıktan sonra (Net olmayan kontrol kuyusu). Plaka iyice karıştırılmış, bu noktada bir kapatıcı ile sabitlenmiş ve 60 dakika boyunca 37°C'de kuluçkalanmıştır.

5- Sızdırmazlık maddesi dışarı atıldıktan sonra plak beş kez yıkama tamponu ile yıkandı. Her yıkama için, kuyulara en az 0.35 mL yıkama tamponu ile 30 saniye boyunca 1 küçültücüye kadar sıçratıldı. Tüm kuyucuklar emildi ve bir süre önce bilgisayarlı yıkama için yıkama tamponu ile aşırı doldurulan yıkama tamponu ile beş kez yıkandı. Plakayı lekelemek için Kanal Kağıdı veya diğer tutucu kumaş kullanılmıştır.

6- Her kuyuya 50 mikrolitre substrat düzenlemesi A, ardından 50 mikrolitre substrat düzenlemesi B alınır. Loşluk içinde 37°C'de 10 dakika boyunca plaka kuluçkaya yatırıldı ve yeni bir kapatıcı ile sabitlendi.

7- Her kuyucuğa 50 mikrolitre Durdurma Solüsyonu verildi, bu da mavi renk tonunun neredeyse anında sarı olmasına neden oldu.

8- Durdurma düzenini uyguladıktan 10 dakika sonra, her bir kuyunun optik kalınlığı (OD değeri), 450 nm'ye ayarlanmış bir mikroplaka peruser kullanılarak ölçüldü.

3.3.5 TNF-α seviyeler

TNF- serum seviyeleriαakar alerjisi olan astımlı hastalarda Bioassay/China ELISA kiti kullanılarak tahmin edilmiştir. Çizelge 3.5, kitin kimyasal reaktiflerini listeler.

Çizelge 3.5 TNF-'nin kimyasal reaktiflerini listelerα takım

Bileşenler	Miktar
Standart Çözüm (6400 sayfa/mL)	0,5 mL x1
Ön Kaplamalı ELISA Plakası	12*8 iyi şeritler x1
Standart Seyreltici	3mL x1
Streptavidin-HRP	6mL x1
Çözümü Durdur	6mL x1
Substrat Çözümü A	6mL x1
Substrat Çözümü B	6mL x1
Yıkama Tamponu Yoğunlaşmak (25x)	20mL x1
biyotinlenmiş İnsan IL-9 Antikor	1mL x1
Kullanıcı Talimatı	1
Plaka Mühürleyen	2 resimler
Fermuarlı Çanta	1 resim

- Prosedür

1- Standart düzenlemeleri içeren reaktifler ve testler, bilgilendirme bölümlerine uygun olarak düzenlenmiştir. Son zamanlarda kullanılan bir süre, toplam reaktifler oda sıcaklığına getirildi. Deneme oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

2- Test için vital strip sayısı ayarlandı. Kullanım için şeritler ana hatlara yerleştirildi. Kullanılmayan stripler 2-8°C sıcaklıkta muhafaza edilmelidir.

3- Standart kuyuya 50 mikrolitre miktarında standart eklenmiştir (Not: Standart solüsyon biyotinlenmiş antikor içerdiğinden, antikor standart kuyuya katkıda bulunmamıştır.)

4- 40 mikrolitre numune test kuyularına dahil edildi, ardından 10 mikrolitre anti-interlökin TNF karşı etkili ajan, 50 mikrolitre streptavidin-HRP ve son olarak 50 l streptavidin-HRP standart kuyucuklara alındı (Net olmayan kontrol kuyusu). Plaka iyice karıştırılmış, bu noktada bir kapatıcı ile sabitlenmiş ve 60 dakika boyunca 37°C'de kuluçkalanmıştır.

5- Sızdırmazlık maddesi dışarı atıldıktan sonra plak beş kez yıkama tamponu ile yıkandı. Her yıkama için, kuyulara en az 0.35 mL yıkama tamponu ile 30 saniye boyunca 1 küçültücüye kadar sıçratıldı. Tüm kuyucuklar emildi ve bir süre önce bilgisayarlı yıkama için yıkama tamponu ile aşırı doldurulan yıkama tamponu ile beş kez yıkandı. Plakayı lekelemek için Kanal Kağıdı veya diğer tutucu kumaş kullanılmıştır.

6- Her kuyuya 50 mikrolitre substrat düzenlemesi A, ardından 50 mikrolitre substrat düzenlemesi B alınır. Loşluk içinde 37°C'de 10 dakika boyunca plaka kuluçkaya yatırıldı ve yeni bir kapatıcı ile sabitlendi.

7- Her kuyucuğa 50 mikrolitre Durdurma Solüsyonu verildi, bu da mavi renk tonunun neredeyse anında sarı olmasına neden oldu.

8- Durdurma düzenini uyguladıktan 10 dakika sonra, her bir kuyunun optik kalınlığı (OD değeri), 450 nm'ye ayarlanmış bir mikroplaka peruser kullanılarak ölçüldü.

3.4 İstatistiksel Analiz

Çalışma parametrelerinde farklılık faktörlerinin etkisini tespit etmek için İstatistiksel Analiz Sistemi-SAS (2012) programı kullanılmıştır. Ortalamalar arasında anlamlı karşılaştırma yapmak için t-testi ve En az önemli fark – LSD testi (Varyasyon Analizi-ANOVA) kullanıldı. Yüzdeler arasında anlamlı karşılaştırma yapmak için ki-kare testi kullanıldı (0,05 ve 0,01 olasılık). Bu çalışmada değişkenler arasındaki korelasyon katsayısının tahmini.

4. SONUÇLAR

4.1 Genel Özellikler

Deney grubu 100 hastadan, kontrol grubu ise 50 sağlıklı kişiden oluşmaktadır. Deney grubundaki 100 hastanın 62'si erkek, 38'i kadındı. Kontrol grubundaki 50 sağlıklı katılımcının 20'si erkek, 30'u kadındı (Çizelge 4.1). Hasta grubunun yaş ortalaması 35.09 ± 14.59 olarak bulundu. Kontrol grubunun yaş ortalaması 34.18 ± 11.78 olarak bulundu.

Çizelge 4.1 Kontrol ve hasta gruplarındaki faktörlerin sonucu

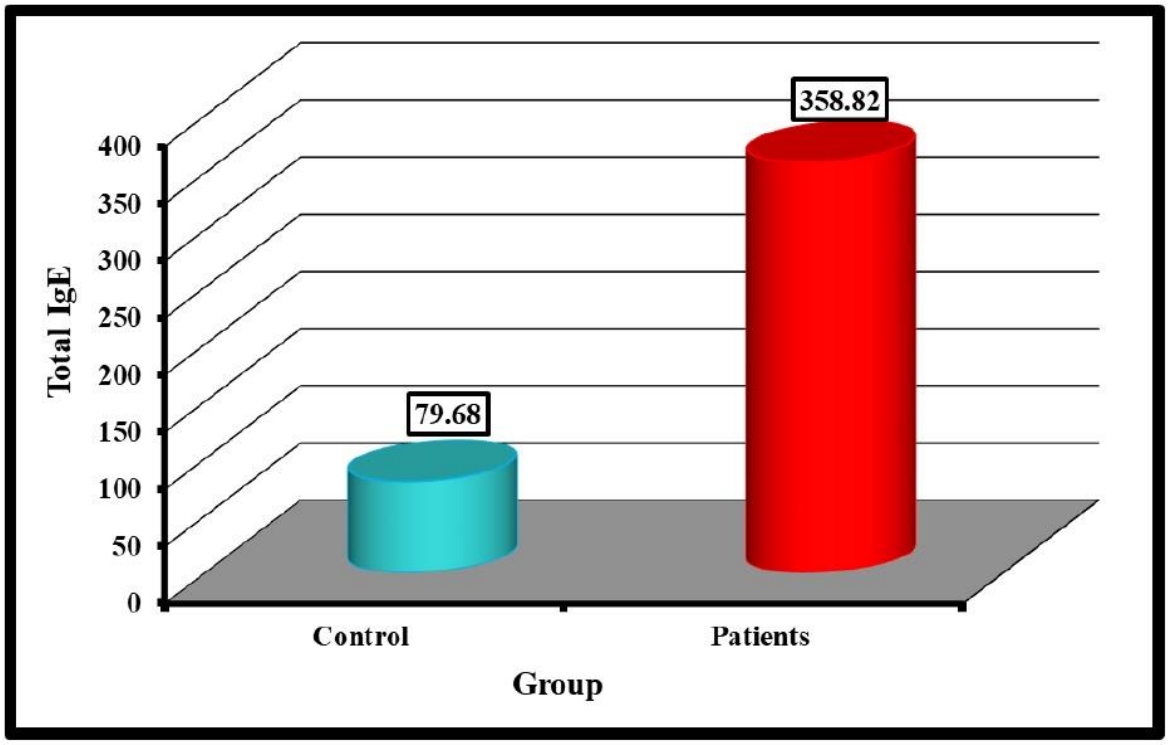
Faktörler		Kontrol	Hastalar	*P*-değer
Cinsiyet: Numara (%)	Erkek	23 (%46.00)	51 (%51,00)	0,328 ABD
	Dişi	27 (%54.00)	49 (49.00%)	
Yaş (yıl)	Ortalama ± SE	27.86 ± 1.12	32,77 ± 1,35	0.0193 *
* (P≤0.05), AD: Önemsiz.				

4.2 Toplam IgE Sonuçları

Astımlı hastalar ve kontroller arasında anlamlı bir fark vardı (P < 0.01), astımlı hastalarda toplam serum IgE düzeylerinin ortalaması 79.68 ± 12.31'e kıyasla 358.82 ± 32.84 idi (Çizelge 4.2, Şekil 4.1). Bu sonuçlar ile mutabık kalınan

Çizelge 4.2 IgE'de kontrol ve hasta gruplarının karşılaştırılması

Grup	Numara	Toplam IgE'nin Ortalama ± SE'si
Kontrol	50	79.68 ± 12.31
Hastalar	100	358,82 ± 32,84
t testi	---	90.789 **
P-değer	---	0.0001
** (P≤0.01).		



Şekil 4.1 Toplam IgE'de kontrol ve hasta grupları arasındaki karşılaştırma

4.3 IL-13, IL-9 ve TNF Sonuçları

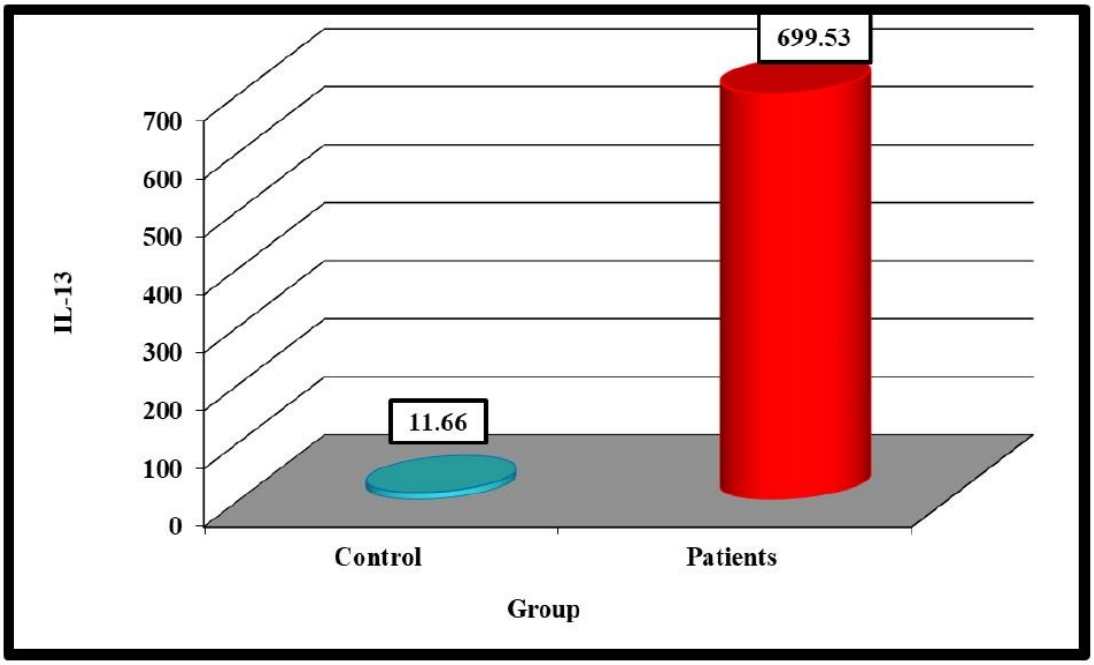
Mevcut sonuçlar, astımlı hastalarda (699,53 ± 39,27) kontrol grubuna (11,66 ± 0,73) kıyasla serum IL-13 serum düzeyinin önemli ölçüde arttığını, IL-9 serum düzeyinin ise

hastalarda 20,74 ± 1,32 ile karşılaştırıldığında azaldığını göstermiştir (Şekil 4.2, Şekil 4.3). Kontrol (491,33 ± 9,04), Çizelge 4.3 ve 4.4'te gösterildiği gibi.

Çizelge 4.5 ve Şekil 4.4'te gösterildiği gibi, kontrol grubuna (52,22 ± 1,41) kıyasla astımlı hastalarda (94.39 ± 6.05) serum TNF düzeyi anlamlı olarak arttı.

Çizelge 4.3 IL-13'te kontrol ve hasta grupları arasındaki karşılaştırma

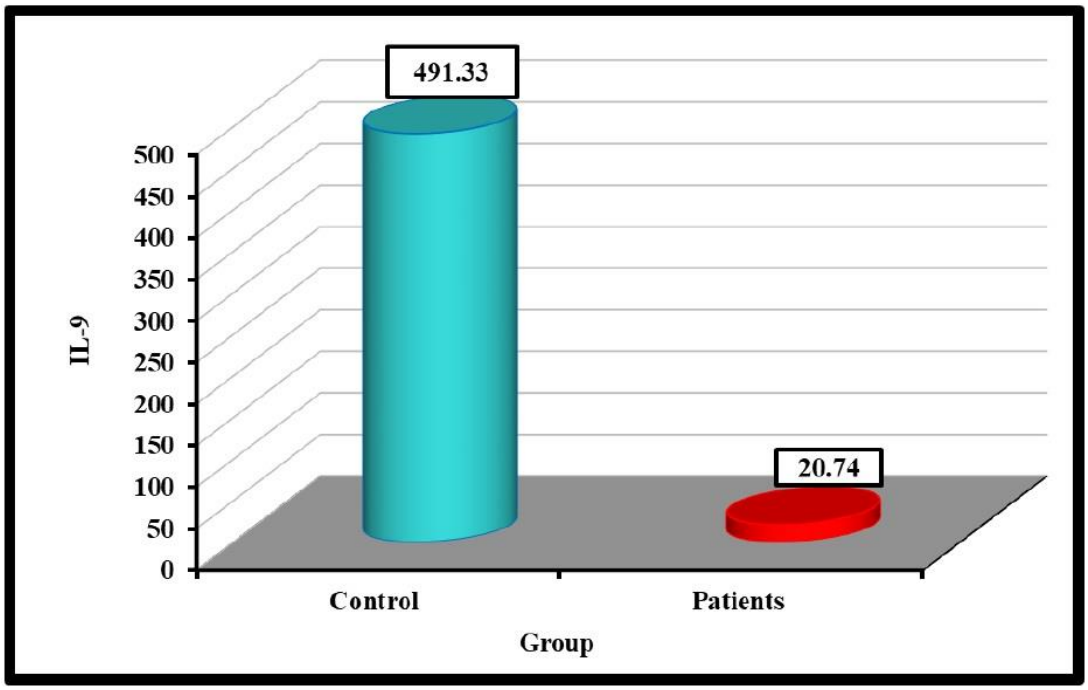
Grup	Numara	IL-13'ün ortalama ± SE'si
Kontrol	50	11,66 ± 0,73
Hastalar	100	699.53 ± 39.27
t testi	---	109,94 **
P-değer	---	0.0001
** (P≤0.01).		



Şekil 4.2 IL-13'te kontrol ve hasta gruplarının karşılaştırılması

Çizelge 4.4 IL-9'da kontrol ve hasta grupları arasındaki karşılaştırma

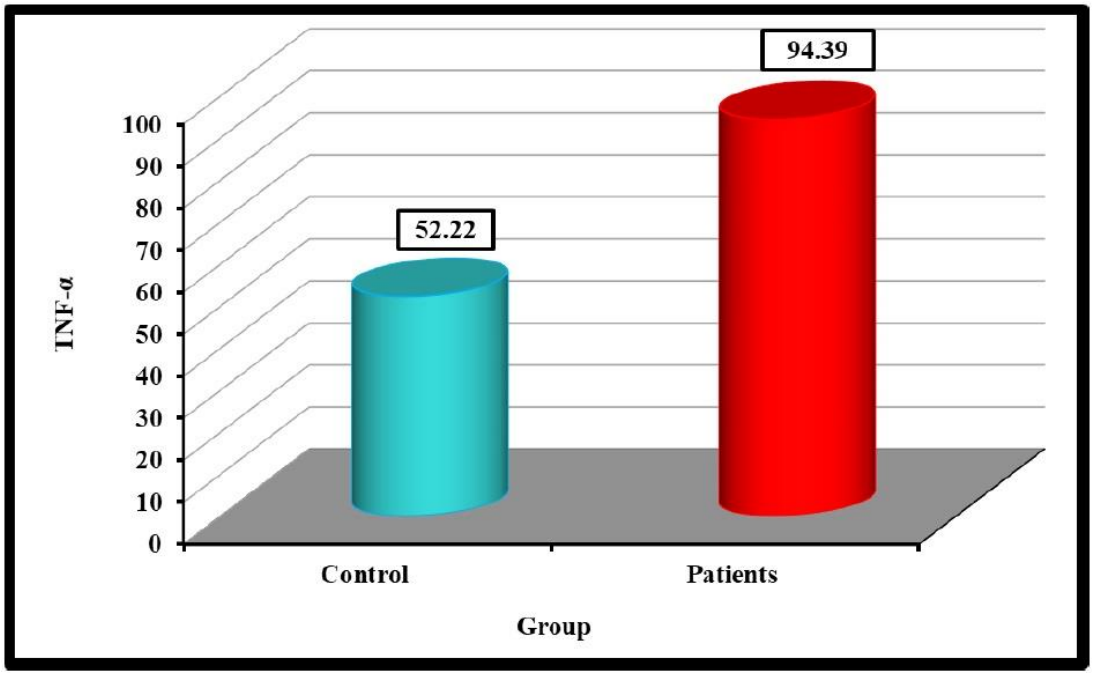
Grup	Numara	IL-9'un ortalama ± SE'si
Kontrol	50	491.33 ± 9.04
Hastalar	100	20.74 ± 1.32
t testi	---	13.134 **
P-değer	---	0.0001
** (P≤0.01).		



Şekil 4.3 IL-9'da kontrol ve hasta grupları arasında karşılaştırma

Çizelge 4.5 TNF-α'da kontrol ve hasta grupları arasındaki karşılaştırma

Grup	Numara	TNF-α'nın ortalama ± SE'si
Kontrol	50	52.22 ± 1.41
Hastalar	100	94.39 ± 6.05
t testi	---	17.075 **
P-değer	---	0.0001
** (P≤0.01).		



Şekil 4.4 TNF-α'de kontrol ve hasta grupları arasındaki karşılaştırma

4.4 Çalışılan Parametrelerin Cinsiyete Göre Tahmini

Cinsiyete göre, çalışılan parametrelerin serum seviyeleri, Çizelge 4.6'da gösterildiği gibi erkek ve kadın arasında anlamlı olmayan farklılık gösterdi.

Çizelge 4.6 Hasta grubundaki parametreler çalışmasında cinsiyetin etkisi

Cinsiyet	Ortalama ± SE			
	IgE	IL-9	IL-13	TNF-α
Erkek	333,93 ±43,17	19,91 ±1,86	704.72 ±42.23	93,01 ±8,90
Dişi	384.71 ±47.12	21.60 ±1.87	694.13 ±67.49	95.83 ±8.27
t testi	126.84 Kuzey Amerika	5.305 Kuzey Amerika	157.34 Kuzey Amerika	24.075 Kuzey Amerika
NS: Önemsiz.				

4.5 Çalışılan Parametrelerin Yaş Gruplarına Göre Tahmini

Çizelge 4.7'de gösterildiği gibi, yaş gruplarına göre, çalışılan parametrelerin serum seviyeleri üç yaş grubu arasında anlamlı olmayan farklılık gösterdi.

Çizelge 4.7 Hasta grubundaki parametreler çalışmasında yaş gruplarının etkisi

Yaş grupları (yıl)	Ortalama ± SE			
	IgE	IL-9	IL-13	TNF-α
30 yıldan az.	406,88 ±52,44	21.77 ±2.17	725,75 ±69,61	95,35 ±8,86
30-40 yıl	319,53 ±51,82	19,81 ±2,48	626,45 ±35,18	79.35 ±5.12
40 yıldan fazla.	312,97 ±55,26	19,83 ±2,04	724,28 ±73,54	107,20 ±15,38
LSD değeri	161.05 Kuzey Amerika	6.736 Kuzey Amerika	199.78 ABD	30.570 Kuzey Amerika
NS: Önemsiz.				

4.6 Pearson Korelasyon Sonuçları

İncelenen parametreler arasındaki korelasyon sonuçları, IgE ile IL-9, IL-9 ve IL-13, TNF arasında güçlü bir negatif korelasyon olduğunu, IgE ile IL-13, IL-13 ve TNF arasında ise güçlü pozitif korelasyon olduğunu göstermiştir. Çizelge 4.8'de gösterildiği gibi.

Çizelge 4.8 Hastalardaki fark değişkenleri arasındaki korelasyon katsayısı

Parametreler	Korelasyon katsayısı-r	İmzala
IgE ve IL-9	-0.44	**
IgE ve IL-13	0.23	**
IgE ve TNF-α	0.06	NS
IL-9 ve IL-13	-0.69	**
IL-9 ve TNF-α	-0.35	**
IL-13 ve TNF-α	0,55	**
** (P≤0.01), NS: Önemsiz.		

5. TARTIŞMA

Astım, hava yolu eozinofilisini, aşırı mukus üretimini, BHR ve IgE oluşumunu artıran tip 2 sitokinler interlökin-4 (IL-4), IL-5 ve IL-13 ile ilişkili kronik inflamatuar bir hava yolu hastalığıdır. Öte yandan astımlıların sadece yarısı, kötüleşen Tip 2 yanıt belirtileri gösterir (Lambrecht *et al.* 2019). Brakhas, 2015, herhangi bir yaştaki alerjik hastaların sağlıklı kontrollerden önemli ölçüde daha yüksek toplam IgE seviyelerine sahip olduğu sonucuna varmıştır ve alerjenlere karşı bağışıklık tepkisine, mast hücrelerini ve bazofilleri aktive eden ve bir dizi alerjeni tetikleyen alerjene özgü IgE antikorunun aracılık ettiğini açıklamıştır. alerjik hastalığın klinik tezahürü ile sonuçlanan hücresel ve moleküler olaylar. Deo vd. (2010), astımlı hastalarda toplam IgE düzeylerinin genel popülasyondan oldukça yüksek olduğunu ve vakaların çoğunda IL-4 sitokinleri ile IL-5 arasında açık bir bağlantı olduğunu ve IL'nin -4, IgE üretiminde artışa neden olan birincil sitokindir. IL-13, goblet hücre hiperplazisini indükler, bronşiyal epitelyal periyodik asit schiff (PAS) hücre boyamasını arttırır ve insan in vitro çalışmalarında MUC5AC ekspresyonunu arttırır. Deneyler, bu etkilerin IL-13R aracılığıyla IL-13 sinyallemesinden kaynaklandığını göstermektedir.α1. Bu çalışmalarda, IL-13 ayrıca IL-13R'nin çözünür formunda bir artış üretti.α2. IL-13Rα2, PAS+ hücrelerini, MUC5AC+ hücrelerini, goblet hücrelerini ve IL-13R tarafından üretilen MUC5AC'nin hem mRNA ekspresyonunu hem de protein salgılanmasını inhibe ettiα2 (Yasuo *et al.* 2006, Tanabe *et al.* 2007).

Astımlı hava yollarında mast hücreleri önemli bir IL-9 kaynağıdır. İnsan eozinofilleri ve nötrofillerinin de IL-9 salgıladığı gösterilmiştir. Doğuştan gelen bağışıklık sisteminin önemli bir bileşeni olan doğuştan gelen lenfoid hücreler de IL-9 üretir (Gounni *et al*. 2000, Sun *et al*. 2018, Turner *et al*. 2013). TNF-alfa, bir dizi astımlı hava yolu hastalığı özelliği ile ilişkili olan bir proinflamatuar sitokindir. Şiddetli refrakter hastalığın tedavisinde önemli bir rolü olabileceğine dair kanıtlar artıyor. Yeni TNF-alfa antagonistlerinin keşfi sayesinde TNF-alfa'nın rolünü in vivo olarak değerlendirebildik. Ön çalışmalar, anti-TNF-alfa tedavisi ile tedavi edilen bireylerde astım yaşam kalitesinde, akciğer fonksiyonunda ve hava yolu aşırı duyarlılığında bir artışın yanı sıra alevlenme sıklığında bir azalma olduğunu göstermiştir (Brightling *et al*. 2008). Th17

hücreleri, astım ve tümör nekroz faktörü-a'nın hepsinin karmaşık bir ilişkisi vardır (TNF-α). Şiddetli steroide dirençli astımı olan hastalarda daha yüksek TNF- seviyeleri vardır.α hava yollarında, TNF- sonuçlarıαklinik çalışmalarda blokaj da değişken olmuştur (Manni *et al*. 2014).

Özetle, IL-9, IL-13 ve TNF şimdi potansiyel olarak ortaya çıkıyor. Akciğer hastalıklarının patogenezinde önemli oyuncular. Son yirmi yılda, IL-4, IL-5 ve IL-17 gibi diğer sitokinlere daha fazla dikkat ve vurgu yapılmıştır. Buna karşılık, IL-9, IL-13 ve TNF daha önce hava yollarında devam eden iltihaplanmanın bir yan ürünü olarak görülmüştü. Ancak burada tartışıldığı gibi, IL-9, IL-13 ve TNF'nin çeşitli akciğer hastalıklarının spesifik yönlerine aracılık etmede aktif bir rol oynayabileceği açıktır. Akciğerde IL-9, IL-13 ve TNF diğer inflamatuar belirteçlerden farklıdır. IL-9, IL-13 ve TNF, genel bağışıklık tepkisinin yanı sıra bağışıklık dışı hücrelerin işlevinin anahtar modülatörleri olabilir.

En şaşırtıcı bulgu, kene alerjik astım grubunda, kontrol grubuna göre IgE üretiminin endojen olarak üretilen IL-9, IL-13 ve TNF'ye daha fazla bağımlı olmasıydı. Bu, hastaların ekzojen IL-9, IL-13 ve TNF'ye yanıt olarak artan IgE sentezinin yanı sıra IL-9, IL-13 ve TNF' üretiminin artmasıyla açıklanabilir. IL-9, IL-13 ve TNF'ye karşı daha yüksek duyarlılığa ve daha fazla kullanılabilirliğe sahiptir. Astım araştırmalarından elde edilen ezici kanıtlar, tip II sitokinler IL-9 ve IL-13'ün akar alerjik astımının patofizyolojisinde önemli bir rol oynadığı fikrini desteklemektedir.

IL-9, Th2 hücre proliferasyonu, sitokin üretimi ve IgE üretimi için önemliyken, IL-13 hastalığın klinik belirtileri için önemlidir. Son olarak, bulgularımız, eksojen TNF'nin, bir sıçan akciğer alerjisi modelinde bir yanma kaynağı partikülünün adjuvan özelliklerini taklit edebileceğini ortaya koymaktadır; bu, TNF'nin ve bir reaksiyon oluşturan diğer herhangi bir maddenin bir adjuvan olarak kullanılabileceğini ima etmektedir. UX'de sitokin nötralizasyonu, TNF tedavisinin antijene özgü IgE'yi, lenfoproliferatif tepkileri ve nihai alerjiyi arttırmasına rağmen, eozinofili ve ilgili eozinofil kemotaktik sitokinleri yalnızca kısmen azalttı. TNF-α, deneysel akar alerjisinde antijene özgü IgE üretimi ve TH2 tipi sitokinlerin ve kemokinlerin

uyarılması için gereklidir. Ek olarak, TNF-a, alerjik inflamatuar bölgeye eozinofillerin alınmasına yardımcı olan adezyon moleküllerinin ekspresyonu için önemli olabilir. TNF-α'nın başlangıcından gelişimine kadar akar alerjisi ile yakından ilgili olduğu sonucuna vardık.

KAYNAKLAR

Abbas, A. K., Lichtman, A. H. and Pillai, S. 2014. Cellular and molecular immunology E-book: Elsevier Health Sciences.

Akoğlu, S., Babayiğit, C., Karazincir, S., Balcı, A. ve Hanta, İ. 2008. Tümör nekroz faktörü-α antagonisti kullanımı sonrası gelişen tüberküloz plörezi: Olgu sunumu. Tüberküloz ve Toraks Dergisi, 56(4): 448-452

Albuquerque, R., Hayden, C., Palmer, L., Laing, I., Rye, P., Gibson, N. and Lesouef, P. 1998. Association of polymorphisms within the tumour necrosis factor (TNF) genes and childhood asthma. Clinical and experimental allergy: Journal of the British Society for Allergy and Clinical Immunology, 28(5), 578-584.

Anticevich, S. Z., Hughes, J. M., Black, J. L. and Armour, C. L. 1995. Induction of Human Airway Hyperresponsiveness by Tumour Necrosis Factor-α. European Journal of Pharmacology, 284(1-2), 221-225.

Arlian, L. G. and Platts-Mills, T. A. 2001. The Biology of Dust Mites and the Remediation of Mite Allergens in Allergic Disease. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 107(3), S406-S413.

Arruda, L. K., Vailes, L. D., Platts-Mills, T., Fernandez-Caldas, E., Montealegre, F., Lin, K.-L. and Chapman, M. D. 1997. Sensitization to Blomia tropicalis in patients with asthma and identification of allergen Blo t 5. American journal of respiratory and critical care medicine, 155(1), 343-350.

Austin, M., Bloomfield, P. S., El-Shanawany, T., Dhruve, H., Evans, J., Fox A., Haque R., Jenkins, M., Seddon, P, Jones, S., Perkin, M., Walker, S. and Welsh E. 2015. Making Sense of Allergies. Sense about Science., 14a Clerkenwell Green. London.

Babu, K. S., Davies, D. E. and Holgate, S. T. 2004. Role of tumor necrosis factor alpha in asthma. Immunology and Allergy Clinics of North America, 24(4), 583–597.

Banks-Schlegle, S. 1997. A genome-wide search for asthma susceptibility loci in ethnically diverse populations. Nat. Genet., 15, 389-392.

Bel, E. H. 2004. Clinical phenotypes of asthma. Curr Opin Pulm Med., 10:44-50.

Birrell, M. A., Van Oosterhout, A. J. and Belvisi, M. G. 2010. Do the current house dust mitedriven models really mimic allergic asthma? European Respiratory Journal, 36:1220–1.

Brakhas, S. A., Hassan, A. J. and Jassim, A. N. 2015. Study of total Immunoglobulin E and Eosinophil count in allergic disease. Baghdad Science Journal, 13(2), 298-304.

Brightling, C., Berry, M. and Amrani, Y. 2008. Targeting TNF-??: A novel therapeutic approach for asthma. The Journal of allergy and clinical immunology, 121. 5-10.

Bufe, A. 1998. The biological function of allergens: relevant for the induction of allergic diseases? International archives of allergy and immunology, 117(4), 215-219.

Calderon, M. A., Linneberg, A., Kleine-Tebbe, J., De Blay, F., Hernandez Fernandez de Rojas, D. and Virchow, J. C. 2015. Respiratory allergy caused by house dust mites: What do we really know? J Allergy Clin Immunol., 136:38–48.

Caraballo, L., Mercado, D., Jiménez, S., Moreno, L., Puerta, L. and Chua, K. Y. 1998. Analysis of the Cross–Reactivity between BtM and Der p 5, Two Group 5 Recombinant Allergens from Blomia tropicalis and Dermatophagoides pteronyssinus. International archives of allergy and immunology, 117(1), 38-45.

Caraballo, L., Puerta, L., Jiménez, S., Martinez, B., Mercado, D., Avjiouglu, A. and Marsh, D. 1997. Cloning and IgE binding of a recombinant allergen from the mite Blomia tropicalis, homologous with fatty acid-binding proteins. International archives of allergy and immunology, 112(4), 341-347.

Chapman, M. D., Smith, A. M., Vailes, L. D., Arruda, L. K., Dhanaraj, V. and Pomés, A. 2000. Recombinant allergens for diagnosis and therapy of allergic disease. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 106(3), 409-418.

Chapman, M., Smith, A., Vailes, L. and Arruda, L. 1997. Recombinant mite allergens: new technologies for the management of patients with asthma. Allergy, 52(4), 374-379.

Chua, K., Stewart, G., Thomas, W., Simpson, R., Dilworth, R., Plozza, T. and Turner, K. 1988. Sequence analysis of cDNA coding for a major house dust mite allergen, Der p 1. Homology with cysteine proteases. The Journal of experimental medicine, 167(1), 175-182.

Colloff, M. 1998. Distribution and abundance of dust mites within homes. Allergy, 53, 24-27.

Colloff, M., Ayres, J., Carswell, F., Howarth, P., Merrett, T., Mitchell, E. and Woodcock, A. 1992. The control of allergens of dust mites and domestic pets: a position paper. Clinical & Experimental Allergy, 22, 1-28.

Davoine, F. and Lacy, P. 2014. Eosinophil cytokines, chemokines, and growth factors: emerging roles in immunity. Frontiers in immunology, 5, 570.

De Alba, J., Raemdonck, K., Dekkak, A., Collins, M., Wong, S. and Nials, A. T. 2010. House dust mite induces direct airway inflammation in vivo: implications for future disease therapy?. European Respiratory Journal, 35:1377–87.

DeBry, R. W. and Seldin, M. F. 1996. Human/mouse homology relationships. Genomics, 33(3).

Deo, S. S., Mistry, K. J., Kakade, A. M. and Niphadkar, P. V. 2010. Relationship of Total IgE, Specific IgE, Skin Test Reactivity and Eosinophils in Indian Patients with Allergy. JIACM., 11(4): 265-271.

Doğan, N., Aycan, Ö. M., Miman, Ö., Atambay, M. ve Daldal, N. 2008. Eskişehir'de ev tozu akarı görülme durumu. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, 9(1) 25-27.

Doran, E., Cai, F., Holweg, C. T. J., Wong, K., Brumm, J. and Arron, J. R. 2017. Interleukin-13 in Asthma and Other Eosinophilic Disorders. 4(139).

Doull, I., Lawrence, S., Watson, M., Begishvili, T., Beasley, R. W., Lampe, F. and Morton, N. E. 1996. Allelic association of gene markers on chromosomes 5q and 11q with atopy and bronchial hyperresponsiveness. American journal of respiratory and critical care medicine, 153(4), 1280-1284.

Elias, J. A., Krol, R. C., Freundlich, B. and Sampson, P. M. 1988. Regulation of human lung fibroblast glycosaminoglycan production by recombinant interferons, tumor necrosis factor, and lymphotoxin. The Journal of clinical investigation, 81(2), 325-333.

Fernández-Caldas, E. 1997. Mite species of allergologic importance in Europe. Allergy, 52(4), 383-387.

Göney, G. ve Yalçın, A. D. A. 2017. Alerji ve Alerjenler. Türkiye Solunum Araştırmaları Derneği Astım Bülteni, 2: 1-34.

Gounni, A. S., Nutku, E., Koussih, L., Aris, F., Louahed, J., Levitt, R. C., Nicolaides, N. C. and Hamid, Q. 2000. IL-9 expression by human eosinophils: Regulation by IL-1beta and TNF-alpha. J. Allergy Clin. Immunol., 106, 460–466.

Green, R. M., Custovic, A., Sanderson, G., Hunter, J., Johnston, S. L. and Woodcock, A. 2002. Synergism between allergens and viruses and risk of hospital admission with asthma: case-control study. BMJ., 324:763.

Gregory, L. G. and Lloyd, C. M. 2011. Orchestrating house dust mite-associated allergy in the lung. Trends Immunol., 32:402–11.

Håkansson, L., Carlson, M., Stålenheim, G. and Venge, P. 1990. Migratory responses of eosinophil and neutrophil granulocytes from patients with asthma. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 85(4), 743-750.

Hart, B. 1998. Life cycle and reproduction of house-dust mites: environmental factors influencing mite populations. Allergy, 53, 13-17.

Heir, R. and Stellwagen, D. 2020. TNF-mediated homeostatic synaptic plasticity: from in vitro to in vivo models. Frontiers in Cellular Neuroscience, 14.

Hirano, T. and Matsunaga, K. 2018. Late-onset asthma: current perspectives. Journal Asthma Allergy, 11:19-27.

Hogan, S. P., Rosenberg, H. F., Moqbel, R., Phipps, S., Foster, P. S., Lacy, P. and Rothenberg, M. E. 2008. Eosinophils: biological properties and role in health and disease. Clinical & Experimental Allergy, 38(5), 709-750.

Holgate, S. T., Church, M. K., Howarth, P. H., Morton, N., Frew, A. J. and Djukanović, R. 1995. Genetic and environmental influences on airway inflammation in asthma. International archives of allergy and immunology, 107(1-3), 29-33.

Kent, N., Hill, M., Keen, J., Holland, P. and Hart, B. 1992. Molecular characterisation of group I allergen Eur m I from house dust mite Euroglyphus maynei. International archives of allergy and immunology, 99(1), 150-152.

Lambrecht, B. N., Hammad, H. and Fahy, J. V. 2019. The Cytokines of Asthma. Immunity, 50, 975–991.

Larsen, J. and Løwenstein, H. 1996. Allergen nomenclature. The Journal of allergy and clinical immunology, 97(2), 577-578.

Lin, Y. C., Lu, C. C., Su, H. J., Shen, C. Y., Lei, H. Y. and Guo, Y. L. 2002. The association between tumor necrosis factor, HLA-DR alleles, and IgE-mediated asthma in Taiwanese adolescents. Allergy, 57(9), 831-834.

Lynch, N. R., Thomas, W. R., Garcia, N. M., Di Prisco, M. C., Puccio, F. A., López, R. I. and Chua, K. Y. 1997. Biological activity of recombinant Der p 2, Der p 5 and Der p 7 allergens of the house-dust mite Dermatophagoides pteronyssinus. International archives of allergy and immunology, 114(1), 59-67.

Mahajan, S. and Mehta, A. 2006. Review Article - Role of Cytokines in Pathophysiology of Asthma. Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics, Vol 5 Num 1. 5.

Manni, M. L., Trudeau, J. B., Scheller, E. V., Mandalapu, S., Elloso, M. M., Kolls, J. K., Wenzel, S. E. and Alcorn, J. F. 2014. The complex relationship between inflammation and lung function in severe asthma. Mucosal Immunol., 7, 1186–1198.

Marsh, D. G., Goodfriend, L., King, T., Løwenstein, H. and Platts-Mills, T. 1988. Allergen nomenclature. Allergy, 43(3), 161-168.

Miethe, S., Karsonova, A. Karaulov A. and Renz, H. 2020. Obesity and asthma. Reviews and Feature Article, 146(4): 685-693.

Miller, J. D. 2018. The Role of Dust Mites in Allergy. Clinical Reviews in Allergy & Immunology, 57(3), 312-329

Minty, A., Chalon, P., Derocq, J.-M., Dumont, X., Guillemot, J.-C., Kaghad, M. and Miloux, B. 1993. lnterleukin-13 is a new human lymphokine regulating inflammatory and immune responses., Nature, 362(6417), 248-250.

Moffatt, M. F. and Cookson, W. O. 1997. Tumour necrosis factor haplotypes and asthma. Human molecular genetics, 6(4), 551-554.

Moore, W. C., Meyers, D. A., Wenzel, S. E., Teague, W. G., Li, H., Li, X. and D'Agostino Jr., R., 2010. Identification of asthma phenotypes using cluster analysis in the Severe Asthma Research Program. American journal of respiratory and critical care medicine, 181:315-23.

Mora, C., Flores, I., Montealegre, F. and Diaz, A. 2003. Cloning and expression of Blo t 1, a novel allergen from the dust mite Blomia tropicalis, homologous to cysteine proteases. Clinical & Experimental Allergy, 33(1), 28-34.

Mouthuy, J., Detry, B., Sohy, C., Pirson, F. and Pilette, C. 2011. Presence in sputum of functional dust mite-specific IgE antibodies in intrinsic asthma. American journal of respiratory and critical care medicine, 184:206–14.

Mueller, G. A., Edwards, L. L., Aloor, J. J., Fessler, M. B., Glesner, J., Pomés, A. and Pedersen, L. C. 2010. The structure of the dust mite allergen Der p 7 reveals similarities to innate immune proteins. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 125(4), 909-917.

Murray, C. S., Poletti, G., Kebadze, T., Morris, J., Woodcock, A., Johnston, S. L. 2006. Study of modifiable risk factors for asthma exacerbations: virus infection and allergen exposure increase the risk of asthma hospital admissions in children. Thorax, 61:376–82.

Nihoul, P. 1993. Controlling glasshouse climate influences the interaction between tomato glandular trichome, spider mite and predatory mite. Crop protection, 12(6), 443-447.

Noguchi, E., Shibasaki, M., Nishiyama, C., Okumura, Y. and Takita, H. 1996. IgE responsiveness to Dermatophagoides farinae in young asthmatic children: IgE binding study using recombinant allergens of Der f 1, Der f 2 and mutant proteins of Der f 2. International archives of allergy and immunology, 110(4), 380-387.

O'brien, R., Byron, K., Varigos, G. and Thomas, W. 1997. House dust mite immunotherapy results in a decrease in Der p 2-specific IFN-γ and IL-4 expression by circulating T lymphocytes. Clinical & Experimental Allergy, 27(1), 46-51.

Oliveira, H., Janssen, A., Pallini, A., Venzon, M., Fadini, M. and Duarte, V. 2007. A phytoseiid predator from the tropics as potential biological control agent for the spider mite Tetranychus urticae Koch (Acari: Tetranychidae). Biological Control, 42(2), 105-109.

Pauli, G. 2000. Evolution in the understanding of cross-reactivities of respiratory allergens: the role of recombinant allergens. International archives of allergy and immunology, 123(3), 183-195.

Perumal, N. B. and Kaplan, M. H. 2011. Regulating Il9 transcription in T helper cells. Trends in immunology, 32(4), 146-150.

Peters, M. C. and Wenzel, S. E. 2020. Intersection of biology and therapeutics: Type 2 targeted therapeutics for adult asthma. Lancet, 395, 371–383.

Peters, S. P. 2014. Asthma Phenotypes: Nonallergic (Intrinsic) Asthma. The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice, 2(6), 650–652.

Platts-Mills, T. A. 1992. Dust mite allergens and asthma: report of a second international workshop. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 89(5), 1046-1060.

Platts-Mills, T. A. and Chapman, M. D. 1987. Dust mites: immunology, allergic disease, and environmental control. J Allergy Clin Immunol., 80:755– 75.

Platts-Mills, T. A., Hayden, M. L., Chapman, M. D. and Wilkins, S. R. 1987. Seasonal variation in dust mite and grass-pollen allergens in dust from the houses of patients with asthma. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 79(5), 781-791.

Platts-Mills, T. A., Vervloet, D., Thomas, W. R., Aalberse, R. C. and Chapman, M. D. 1997. Indoor allergens and asthma: report of the Third International Workshop. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 100(6), S2-S24.

Postma, D. S., Bleecker, E. R., Amelung, P. J., Holroyd, K. J., Xu, J., Panhuysen, C. I. and Levitt, R. C. 1995. Genetic susceptibility to asthma—bronchial hyperresponsiveness coinherited with a major gene for atopy. New England journal of medicine, 333(14), 894-900.

Puerta, L., Caraballo, L., Fernández-Caldas, E., Avjioglu, A., Marsh, D. G., Lockey, R. F. and Dao, M. L. 1996. Nucleotide sequence analysis of a complementary DNA coding for a Blomia tropicalis allergen. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 98(5), 932-937.

Puerta, L., Kennedy, M. W., Jiménez, S. and Caraballo, L. 1999. Structural and ligand binding analysis of recombinant Blo t 13 allergen from Blomia tropicalis mite, a fatty acid binding protein. International archives of allergy and immunology, 119(3), 181-184.

Rael, E. L. and Lockey, R. F. 2011. Interleukin-13 signaling and its role in asthma. World Allergy Organization Journal, 4(3), 54-64.

Ramos, J. D. A., Cheong, N., Lee, B. W. and Chua, K. Y. 2001. cDNA cloning and expression of Blo t 11, the Blomia tropicalis allergen homologous to paramyosin. International archives of allergy and immunology, 126(4), 286-293.

Robinson, C., Kalsheker, N., Srinivasan, N., King, C., Garrod, D., Thompson, P. and Stewart, G. 1997. On the potential significance of the enzymatic activity of mite allergens to immunogenicity. Clues to structure and function revealed by molecular characterization. Clinical & Experimental Allergy, 27(1), 10-21.

Sanchez-Borges, M., Fernandez-Caldas, E., Thomas, W. R., Chapman, M. D., Lee B. W. and Caraballo L. 2017. International consensus (ICON) on: clinical consequences of mite hypersensitivity, a global problem. World Allergy Organ Journal, 10:14.

Sarwar, M. 2020. House Dust Mites: Ecology, Biology, Prevalence, Epidemiology and Elimination. Parasitology and Microbiology Research, 26.

Schmid-Grendelmeier, P., Altznauer, F., Fischer, B., Bizer, C., Straumann, A., Menz, G. and Simon, H. U. 2002. Eosinophils express functional IL-13 in eosinophilic inflammatory diseases. The Journal of Immunology, 169(2), 1021-1027.

Schulz, O., Sutton, B. J., Beavil, R. L., Shi, J., Sewell, H. F., Gould, H. J. and Shakib, F. 1997. Cleavage of the low-affinity receptor for human IgE (CD23) by a mite cysteine protease: nature of the cleaved fragment in relation to the structure and function of CD23. European journal of immunology, 27(3), 584-588.

Sears, R. and Sears, W. 2015. The Allergy Book: Solving Your Family's Nasal Allergies, Asthma, Food Sensitivities, and Related Health and Behavioral Problems. 1st edition. Little, Brown and Company. New York, Boston, London.

Shah, A., Church, M. and Holgate, S. 1995. Tumour necrosis factor alpha: a potential mediator of asthma. Clinical and experimental allergy, 25(11), 1038-1044.

Small, B. 2003. American Academy of Allergy, Asthma and Immunology. Sinusitis: more than just an infection. Asthma Allergy Advoc., 5, 28.

Smith, A. M., Benjamin, D. C., Hozic, N., Derewenda, U., Smith, W. A., Thomas, W. R. and Chapman, M. D. 2001. The molecular basis of antigenic cross-reactivity between the group 2 mite allergens. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 107(6), 977-984.

Soto-Quiros, M., Avila L., Platts-Mills T. A., Hunt J. F., Erdman D. D. and Carper H. 2012. High titers of IgE antibody to dust mite allergen and risk for wheezing among asthmatic children infected with rhinovirus. J Allergy Clin Immunol., 129:1499–505.e5.

Soussi-Gounni, A., Kontolemos, M. and Hamid, Q. 2001. Role of IL-9 in the pathophysiology of allergic diseases. Journal of Allergy and Clinical Immunology, 107(4), 575–582.

Stewart, G. and Robinson, C. 2003. The immunobiology of allergenic peptidases. Clinical and Experimental Allergy, 33: 3-6.

Strannegård, Ö. and Strannegård, I. L. 2001. The causes of the increasing prevalence of allergy: is atopy a microbial deprivation disorder? Allergy, 56(2), 91-102.

Sun, B., Zhu, L., Tao, Y., Sun, H. X., Li, Y., Wang, P., Hou, Y., Zhao, Y., Zhang, X. and Zhang, L. 2018. Characterization and allergic role of IL-33-induced neutrophil polarization. Cell. Mol. Immunol., 15, 782–793.

Tanabe, T., Fujimoto, K., Yasuo, M., Tsushima, K., Yoshida, K., Ise, H. and Yamaya, M. 2007. Modulation of mucus production by interleukin-13 receptor a2 in the human airway epithelium. Clin Exp Aller., 38:122–134.

Terreehorst, I., Oosting, A., Tempels-Pavlica, Z., De Monchy, J. R., Bruijnzeel-Koomen, C. F., Hak, E. and Van Wijk, R. G. 2002. Prevalence and severity of allergic rhinitis in house dust mite-allergic patients with bronchial asthma or atopic dermatitis. Clinical & Experimental Allergy, 32(8), 1160-1165.

Thomas, P. S., Yates, D. H. and Barnes, P. J. 1995. Tumor necrosis factor-alpha increases airway responsiveness and sputum neutrophilia in normal human subjects. American journal of respiratory and critical care medicine, 152(1), 76-80.

Thomas, W. R. 2012. House dust allergy and immunotherapy. Hum Vaccin Immunother, 8:1469–78.

Tilak, S. T. and Jogdand, S. B. 1989. House dust mites. Annals of allergy, 63(5), 392-397.

Travers, P., Walport, M., Shlomchik, M. J. and Janeway, M. 1997. Immunobiology: the immune system in health and disease: Churchill Livingstone.

Trian, T., Allard, B., Dupin, I., Carvalho, G., Ousova, O. and Maurat, E. 2015. House dust mites induce proliferation of severe asthmatic smooth muscle cells via an epithelium-dependent pathway. Am J Respir Crit Care Med., 191:538–46.

Turner, J. E., Morrison, P. J., Wilhelm, C., Wilson, M., Ahlfors, H., Renauld, J. C., Panzer, U., Helmby, H. and Stockinger, B. 2013. IL-9-mediated survival of type 2 innate lymphoid cells promotes damage control in helminth-induced lung inflammation. J. Exp. Med., 210, 2951–2965.

Valenta, R. and Vrtala, S. 1999. Recombinant allergens for specific immunotherapy. Allergy. Supplement, 54(56), 43-44.

Valenta, R., Vrtala, S., Laffer, S., Spitzauer, S. and Kraft, D. 1998. Recombinant allergens. Allergy, 53(6), 552-561.

Van Bronswijk, J., De Cock, A. and Oshima, S. 1973. The genus Blomia Oudemans (Acari: Glycyphagidae). I. Description of Blomia tropicalis sp. n. from house dust in tropical and sub-tropical regions. Acarologia, 15(3), 477-489.

Van der Heide, S., De Monchy, J., De Vries, K., Dubois, A. and Kauffman, H. 1997. Seasonal differences in airway hyperresponsiveness in asthmatic patients: relationship with allergen exposure and sensitization to house dust mites. Clinical & Experimental Allergy, 27(6), 627-633.

Van Hage-Hamsten, M. and Johansson, E. 1998. Clinical and immunologic aspects of storage mite allergy. Allergy, 53, 49-53.

Vogel, G. 1997. New clues to asthma therapies. Science. 276(5319), 1643.

Vona, I. 1997. Immunotherapy for house dust allergy. Clinical Otolaryngology & Allied Sciences, 22(1), 52-56.

Wenzel, S. E. 2012. Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches. Nat Med., 18:716-25.

Wenzel, S. E., Schwartz, L. B., Langmack, E. L., Halliday, J. L., Trudeau, J. B., Gibbs, R. L. and Chu, H. W. 1999. Evidence that severe asthma can be divided pathologically into two inflammatory subtypes with distinct physiologic and clinical characteristics. American journal of respiratory and critical care medicine, 160(3), 1001-1008.

Westerhof, G. A., Coumou, H., de Nijs, S. B., Weersink, E. J. and Bel, E. H. 2018. Clinical predictors of remission and persistence of adult-onset asthma. J Allergy Clin Immunol., 141:104-9.e3.

Wilson, A. G., Symons, J. A., McDowell, T. L., McDevitt, H. O. and Duff, G. W. 1997. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor α promoter on transcriptional activation. Proceedings of the National Academy of Sciences, 94(7), 3195-3199.

Yasuda, Y., Nagano, T., Kobayashi, K. and Nishimura, Y. 2020. Group 2 Innate Lymphoid Cells and the House Dust Mite-Induced Asthma Mouse Model. Cells., 9(5):1178.

Yasuo, M., Fujimoto, K., Tanabe, T., Yaegashi, H. and Tsushima, K. 2006. The relationship between calcium-activated chloride-channel 1 and MUC5AC in goblet cell hyperplasia induced by interleukin-13 in human bronchial epithelial cells. Respiration, 73:347–359.

Yi, F., Cheong, N., Shek, P. L., Wang, D., Chua, K. and Lee, B. 2002. Identification of shared and unique immunoglobulin E epitopes of the highly conserved tropomyosins in Blomia tropicalis and Dermatophagoides pteronyssinus. Clinical & Experimental Allergy, 32(8), 1203-1210.

Zhou, Y., McLane, M. and Levitt, R. C. 2001. Th2 cytokines and asthma—Interleukin-9 as a therapeutic target for asthma. Respiratory research, 2(2), 1-5.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı:	Hiyam Sameer ABDULAMEER ALSAADİ	
Yabancı Dili:	Türkçe, İngilizce	

Eğitim

Yüksek Lisans:	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2019 - Halen
Lisans:	Al-Esraa Üniversitesi Koleji Tıbbi Laboratuvar Teknikleri Bölümü	2012 - 2016