

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

ASPIRİN DUYARLI ASTIMLI HASTALARDA
ASPIRİN DESENSİTİZASYON TEDAVİSİNİN
KLİNİK VE HEMATOLOJİK PARAMETRELER ÜZERİNE
ETKİSİ

Doç. Dr. Ayőe AKTAŞ

Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Allerji Bilim Dalı
YAN DAL UZMANLIK TEZİ

ESKİŞEHİR
2009

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

ASPIRİN DUYARLI ASTIMLI HASTALARDA
ASPIRİN DESENSİTİZASYON TEDAVİSİNİN
KLİNİK VE HEMATOLOJİK PARAMETRELER ÜZERİNE
ETKİSİ

Doç. Dr. Ayőe AKTAŞ

Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Allerji Bilim Dalı
YAN DAL UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŐMANI
Prof. Dr. Emel KURT

ESKİŞEHİR
2009

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince birlikte çalıştığım ve kendisinden çok şey öğrenme fırsatını bulduğum değerli hocam Allerji Bilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Emel Kurt'a, eğitimime ve huzurumuza katkılarından dolayı şahsım, annem ve çocuklarım adına teşekkür eder iken, birlikte çalışma fırsatı bulduğum Göğüs Hastalıkları camiasının güzide ve insani değerleri yüksek hocaları Prof. Dr. Muzaffer Metintaş, Prof. Dr. Sinan Erginel'e, arkadaşlarım Doç. Dr. Füsun Alataş, Doç. Dr. İrfan Uçgun'a, Yrd. Doç. Dr. Hüseyin Yıldırım, Yrd. Doç. Güntülü Ak'a, tezimin oluşum sürecinde yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Zafer Gülbaş, Prof. Dr. Selma Metintaş, Prof. Dr. Abdülkadir Koçak, biyolog Gülcihan Demiral ile Mediha Kaymak'a, teşekkür etmeyi borç bilirim.

ÖZET

Aktaş, A. Aspirin duyarlı astımlı hastalarda aspirin desensitizasyon tedavisinin klinik ve hematolojik parametreler üzerine etkisi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Allerji Bilim Dalı, Yan Dal Uzmanlık Tezi, Eskişehir, 2009. Bu çalışmada; aspirin (ASA) duyarlı olan astımlılarda kanda CD4+ T lenfositlerden Th1 tipi sitokinleri temsil eden IFN- γ ve IL-2 ile Th2 tipi sitokinleri temsil eden IL-4 sunumunun, lenfosit altgrupların ve lenfosit apoptozunun bir aylık desensitizasyon tedavisi sonrası değişikliklerinin gözlenmesi amaçlanmıştır. Daha önce nazal polip ve/veya sinüs cerrahisi geçirmiş, rinit, astım bulguları olan asetil salisilik asit (ASA) ve/veya non-steroidal antiinflamatuar (NSAİİ) ile solunumsal yakınmaları olan, 12 ASA'ye duyarlı astımlı (ADA) hasta çalışmaya alındı. 15 sağlıklı kişi ve 12 ASA'ye duyarlı olmayan astımlı hasta kontrol gruplarını oluşturdu. Desensitizasyondan 48 saat önce tüm hastalar değerlendirildi. Solunum fonksiyon testi (SFT), astım kontrol testi (AKT), rinomanometrik ölçümleri ve koku skor düzeyi saptandı. Burun sürüntü örneği alınan hastalardan lenfosit apoptozisi ve IFN- γ , IL-2, IL-4 salınımını yapan CD4+ T lenfositlerin yüzdesine, lenfosit alt grupları ve lenfosit apoptozis oranına bakılmak üzere kan örneği alındı. Desensitizasyon işleminin ilk günü plasebo ile teste başlandı. Bu sırada hiçbir hastamızda yakınma oluşmadı. 2. gün 3'er saat aralar ile 25 mg, 50 mg, 75 mg ve 100 mg toplam 250 mg ASA uygulandı. 3. gün 150 mg ve 300 mg, toplam 450 mg asetilsalisilik asit (ASA) uygulandı. 4. gün 600 mg 2x1 şeklinde uygulandı. 1. aylık kontrolda tetkikler tekrar edildi. Desensitizasyon öncesi IFN- γ oranı normal-kontrolden düşük olarak saptanmıştır (p=0.04). ADA'lı grupta desensitizasyon sonrası IFN- γ oranı normal-kontrolden düşük olarak saptanmıştır (p=0.036). ADA'lı grupta desensitizasyon sonrası CD19 değeri, normal-kontrolden düşük olarak saptanmıştır (p=0.047). Gruplar arasında lenfosit subtipleri, lenfosit apoptozisi ve diğer sitokinlerin salınımı bakımından fark saptanmamıştır.

Anahtar kelimeler; Aspirin, Astım, Desensitizasyon, Lenfosit, Sitokin,

ABSTRACT

Aktaş, A. The current study deals with the effects of the treatment of ASA desensitization on clinical parameters and hemathological in patients with ASA sensitive patients at Eskisehir Osmangazi Üiversity Medical Faculty Chest Disease Department Allergy Department. The present study aimed to assess changes in the expression of IFN- γ and IL-2 as Th1 type cytokines and IL-4 as Th2 type cytokine from CD4+ T lymphocytes, lymphocyte subgroups and lymphocyte apoptosis in peripheral blood from ASA sensitive asthmatics after one month of ASA desensitization period. 12 ASA sensitive asthma patients with previous history of nasal polyp and/or sinus surgery, rhinitis, asthma findings and asetil salisilik asit (ASA) and/or NSAID activated respiratory problems were included in the study (ADA). 15 healty people and 12 ASA non sensitive asthma patients were set the control group and single blood samples were obtained to determine the lymphocyte subgroups and apoptosis, intracellular cytokine ratio of CD4+ lymphocytes. The blood samples were taken from the patients from whom the nasal smear was also obtained in order to detect intracellular cytokine ratio of CD4+ lymphocytes, subgroups, and also apoptosis level. The test was begun at the first day of desensitization. There was no any complain for the patients during this time. At the second day 25 mg, 50 mg, 75 mg, and 100 mg ASA was applied with 3 hours interval. At the third day 150 mg and 300 mg ASA was applied. At the fourth day 2x600 mg ASA was applied. Peripheral blood from ASA sensitive asthmatics after one month of ASA desensitization period. The expression of IFN- γ from CD4+ T lymphocytes was decreased in ASA sensitive asthmatics than those normal-controls both before ($p=0.04$) and after desensitization period ($p=0.036$). CD19 lymphocytes were decreased in ASA sensitive asthmatics than those normal-controls after desensitization ($p=0.047$). There was no change in respect to expression of other cytokines, lymphocyte apoptosis and lymphocyte subtypes between groups.

Key words: Aspirin, Asthma, Desensitization, Lymphocytes, Cytokines.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
TEZ KABUL ve ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
TABLolar DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2. 1. Aspirine duyarlı astım Tarihçe.....	2
2. 2. Epidemiyolojisi	2
2. 3. Risk faktörleri.....	3
2. 4. Etyoloji ve patogenez.....	4
2. 5. Klinik.....	6
2. 6. Tanı.....	8
2. 7. Tedavi.....	10
2. 8. Lenfositler.....	12
2. 9. Apoptozis.....	13
2. 10. Sitokinler.....	17
2. 11. Rinomanometri.....	18
2. 12. Astım Kontrol Testi (AKT).....	19
2. 13. Koku duyası için semptom skoru.....	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	22
3. 1. Hasta seçimi ve takibi ve Aspirin desensitizasyon tedavisi.....	22
3. 2. Tam Kanda T Helper Hücrelerinde İnteralellüler Sitokin Düzeyi Ölçümü...24	24
3. 3. Lenfosit Apoptoz Tayini.....	24
3. 4. Lenfosit alt grupları.....	24
3. 5. Nazal sürüntü alınması.....	25
3. 6. Rinomanometri.....	25

3. 7. İstatistiksel Yöntemler	25
4. BULGULAR.....	26
5. TARTIŞMA.....	35
6. SONUÇLAR.....	44
KAYNAKLAR.....	45

SİMGELER VE KISALTMALAR

- ADA-Aspirine duyarlı astım
AİF-Apoptozis indükleyici faktör
Apaf-1-Apoptotik proteaz aktivatör faktör-1
ASA-Asetil salisilik asit
BCSF-1-B hücre stimülatör faktör-1
CAD- Kaspaz aktive DNAaz
COX-Siklooksijenaz
ECP- Eozinofilik katyonik protein
FEV1-Zorlu ekspiratuar volum 1.sn
FITC- *Fluorescein isothiocyanate*
GM-CSF-Granülosit makrofaj stimülatör faktör
HETE- Hidroksieikosatetraenoik asid
HLA-İnsan lökosit antijenleri
PG-Prostaglandin
PI-*Propidium iodide*
PMA-*Phorbol 12-Myristate 13-Acetate*
LXA4-Lipoksin A4
R-Direnç
s-LT-Sisteinil lökotrienler
SFT- Solunum fonksiyon testleri
ICAD-İnhibitör kaspaz deoksirübönükleaz
IFN-İnterferon
IL-İnterlökin
IAP-Apoptozis inhibitörleri
ICE-İnterlökin 1- β dönüştürücü enzim
Ig-İmmunglobulin
L-ASA-Lisin aspirin
LT-Lökotrien
MBP- Major bazik protein
MHC-Doku uyumluluk kompleksi

NSAİİ-Nonsteroidal anti-inflamatuar ilaç

P-Basınç

TA- Tansiyon arteriel

TGF-Doku büyüme faktörü

TNF-Tümör Nekrozis Faktör

Th-T helper

V-Volüm

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Araşidonik asid metabolizması.....	4
Şekil 2.2. Apoptozis yolağı ve bu yolda mitokondrinin rolü	15
Şekil 2.3. Anterior rinomanometri örneğı.....	19
Şekil 4.1. Desentizasyon öncesi 1.gün, 2.gün, 3.gün şikayetlerin dağılımı.....	27

TABLolar DİZİNİ**Sayfa**

Tablo 4.1. Hasta ve kontrol grupların klinik ve demografik özellikleri.....	26
Tablo 4.2. Desensitizasyon sırasında FEV1 düşme oranlarına göre hastaların dağılımı.....	28
Tablo 4.3. ADA'lı hastalarda desensitizasyon öncesi ve sonrası nazal ve solunumsal takip parametreleri.....	29
Tablo 4.4. ADA'lı hastalarda desensitizasyon öncesi CD4+ T lenfositlerden sunulan sitokin düzeyleri, lenfosit alt gruplar ve lenfosit apoptozisinin kontrol grupları ile karşılaştırılması.....	31
Tablo 4.5. ADA'lı hastalarda desensitizasyon öncesi ve sonrası CD4+ T lenfositlerden sunulan sitokin düzeyleri, lenfosit alt gruplar ve lenfosit apoptozisinin karşılaştırılması.....	32
Tablo 4.6. ADA'lı hastalarda desensitizasyon sonrası CD4+ T lenfositlerden sunulan sitokin düzeyleri, lenfosit alt gruplar ve lenfosit apoptozisinin kontrol grupları ile karşılaştırılması.....	33

1. GİRİŞ

ASA, 1899 yılında Felix Hoffman (1) tarafından bulunduktan sonra analjezik, antiinflamatuvar, antipiretik ve antiagregan özelliklerinden dolayı kullanım› giderek yaygınlaşmış bir ilaçtır. Günümüzde serebrovasküler hastalık ve miyokard iskemisine karşı koruyucu etkinliğinin gösterilmesi kalp ve beyin hastalıklar›nda, antiinflamatuvar ve analjezik özelliğinin bir arada bulunması, romatizmal hastalıklarda kullanım›n› zorunlu hale getirmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2. 1. Aspirine Duyarlı Astım Tarihçe

İlaca bağlı ilk reaksiyon sentezlenmesinden 3 yıl sonra, 1902 yılında Hirschberg tarafından bildirilmiştir. 1922 yılında Widal ve ark. (2) ASA'ye bağlı astım ve nazal polipozis birlikteliğini tanımladıktan sonra, 1968 yılında Samter ve Beer (3) isimli iki araştırmacı ASA duyarlılığı olan astımlı hastalarda hava yollarında özel tipte bir inflamatuvar hastalığın var olduğunu bildirdiler. Bu tarihten sonra hastalık, Samter'in hastalığın klinik ve etyolojisine yönelik katkısından dolayı "Samter sendromu" olarak adlandırılmıştır.

İlk desensitizasyon çalışması, 1976 yılında Zeiss ve Lockey tarafından indometazin ile yapıldıktan sonra, gerçek anlamda ilk ASA desensitizasyonu 1980 yılında Stevenson ve ark. (4-6) tarafından ASA'ye duyarlı astımlı 2 hastada uygulanmıştır.

Asetil salisilik asit (ASA) duyarlı astım, olarak da bilinen bu üçlü (rinit "polipli veya polipsiz", astım ve ASA duyarlılığı), günümüzde sinüzitin de eklenmesi ile dörtlü bir semptomatoloji haline gelmiştir (7). "Samter Sendromu" "Aspirin triad", "ASA sensitif astım", "ASA triad", "Aspirinle indüklenen astım", "Aspirin intolerant astım", "Aspirin duyarlı astım", gibi çeşitli isimlerle de anılmaktadır. Çalışmamız sırasında "aspirine duyarlı astım" terimi ve buna bağlı olarak "ADA" kavramı kullanılmaktadır.

2. 2. Epidemiyoloji

ASA antipiretik, analjezik, antiagregan ve antiinflamatuvar özellikleri nedeni ile geniş bir kullanım alanına sahip, oldukça sık reçete edilen ve tüketilen bir ilaçtır (1). ADA tanımı her ne kadar ASA'ye özgü gibi görünmesine karşın aslında siklooksijenaz-1 (COX-1) enzimini kuvvetli olarak inhibe eden tüm non-steroidal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ) ile de benzer reaksiyonlar gözlenebilmektedir.

Astımlı olgularda ASA ve diğer NSAİİ ile oluşan intolerans reaksiyonlarının sıklığı seçilen yöntemle göre değişmekle birlikte, hasta beyanı esas alındığında erişkinlerde %3, çocuklarda %2, oral ASA provokasyonu esas alındığında erişkin astımlılarda %21, çocuklarda ise %5 gibi oranlara yükselmektedir (8). Astıma "kronik sinüzit" ya da "nazal polip" eşlik ediyorsa reaksiyon oranı %40'lara

ulaşabilmektedir. Bu bulgudan yola çıkılarak koku alma hissi azalmış, nazal polibi ve sinüziti olan astımlı bir hastada ASA duyarlılığının olabileceği düşünülmeli gerekmektedir.

2. 3. Risk Faktörleri

2. 3. 1. Genetik

ADA'lı olgularda yapılan çalışmalarda hastalığın özellikle beyaz ırkta HLA allelleri ile ilişkisi vurgulanmış ve HLADPB1*0401 ve DPB1*0301'in bu patoloji ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (9). Kore'den yapılmış bir araştırmada HLA DPB1*0301'in yanı sıra, HLADRB1*0901 haplotipinin de ADA gelişiminde önemli rol oynayabileceği vurgulanmıştır (10). Bunun yanı sıra LTC₄ sentetaz genindeki polimorfizmin de ADA gelişiminde önemli olduğunu destekleyen veriler mevcuttur (11).

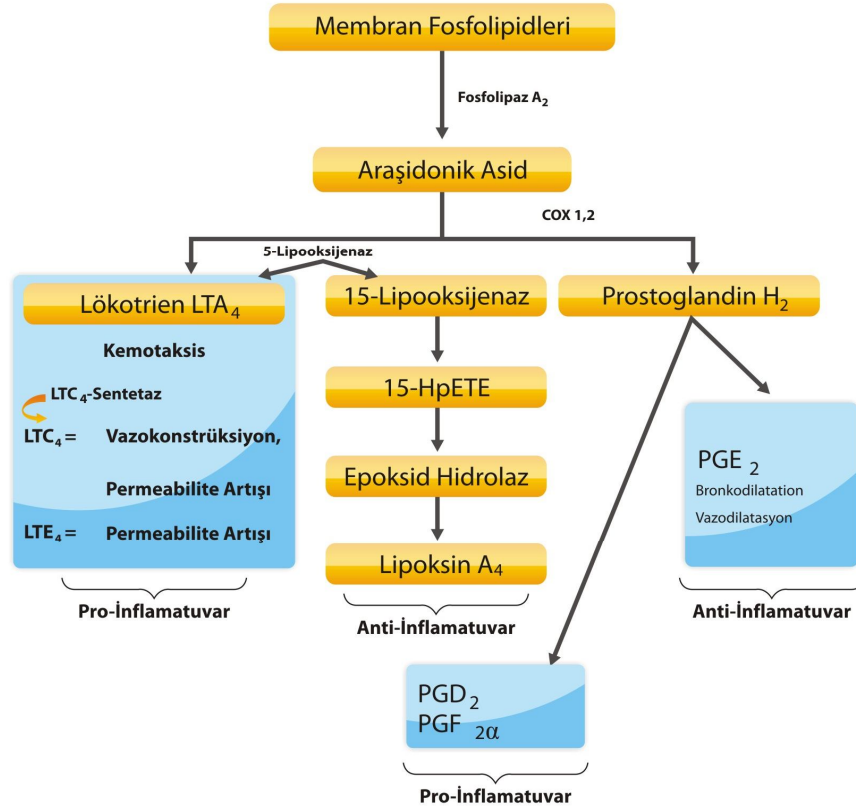
2. 3. 2. Atopi

Analjezik intoleransının atopi ile ilişkisi hakkında çelişkili veriler mevcuttur. Geçmiş yıllarda bu olgularda atopi oranının normal populasyondan düşük veya farksız olduğu söylenmesine karşın, son yıllarda yapılan çalışmalarda bunun tersi sonuçlar elde edilmiştir. Bochenec ve ark. (12) çalışmasında, ASA duyarlı astımlı olgularda prik test pozitifliği %43,6 olarak bulunmuştur. Samter ve ark. (13), ASA ile astım gelişen hastalarda atopi oranını %3'den az saptamışlardır. Ancak, bu çalışmada atopi tanısı hastada ve/veya ailesindeki atopi anamnezine göre konulmuştur. Çelik ve ark. (14) NSAİİ'lara bağlı astımı olanlarda deri testleri ile saptanan atopi sıklığını %45 oranında ve normal populasyondan fazla bulmuşlardır. Bu bulgular eşliğinde atopinin NSAİİ duyarlılığının gelişiminde bir risk faktörü olduğu söylenebilir.

2. 3. 3. Komorbid Hastalık Bulunuşu

Astımlı olgularda analjezik kullanımı sonrası nefes darlığı gelişmesi sağlıklı toplumdan yüksektir (15, 16). Astımlı bir kişide kronik rinosinüzit ve/veya nazal polip de beraberinde bulunuyorsa bu risk belirgin bir şekilde artar.

2. 4. Etyoloji ve Patogenez



Şekil 2.1. Araşidonik Asid metabolizması

Hücre duvarındaki araşidonik asitlerin COX enzimi aracılığıyla metabolizması sonucu prostanoidler oluşur. Hava yolundaki hücrelerden COX enzimi aracılığı ile hem PGD₂ ve PGF_{2α} gibi pro-inflamatuvar prostanoidler, hem de PGE₂ gibi antiinflamatuvar prostanoidler üretilir (17, 18). Enzimin iki izoformu vardır. Bunlar; COX-1 ve COX-2'dir. COX-1 hücrelerden bazal düzeyde sürekli olarak salgılanırken, COX-2 inflamasyon sırasında inflamatuvar prostanoidler sentezini arttırmak üzere salgınır. Bronşiyal biyopsi çalışmalarının sonucuna göre ADA'lı olgular ile ASA'e duyarlı olmayan hastalar arasında COX-1 ve COX-2 salgınım açısından fark bulunmamıştır (19).

ASA, uzun yıllardır kullanılan ve güçlü COX-1 enzim inhibisyonu yapan bir ilaçtır. Araşidonik asitten COX enzimi ile prostoglandinler oluşur iken, 5-lipooksijenaz yolu üzerinden ise LTB₄ ile sisteinil lökotrienler (sLT) olarak adlandırılan LTC₄, LTD₄, LTE₄ oluşur. ASA ve benzeri NSAİİ'lerin kullanım

sonras› COX-1 enzimi inhibe olur iken, başta PGE₂ olmak üzere COX-1 enzimi ürünlerinde azalma oluşur (Şekil 2.1.) COX-2 enzimini inhibe eden ilaçlar ile koruyucu özelliği olduğu bilinen PGE₂ azalmaz (20, 21).

ASA ve NSAİİ'a bağlı solunum sistemi semptomlarının şiddeti, ilacın COX-1 enzim inhibisyon gücü ile doğru orantılıdır. COX-1 enzimini güçlü inhibe eden ilaçlar şiddetli semptom oluşturur iken, zayıf inhibitörler ya hiç semptomna neden olmazlar, ya da yüksek dozlarda alındıklarında semptom oluştururlar. Örneğin, zayıf COX-1 inhibitörü asetaminofen, 500 mg dozuna kadar güvenle kullanılabilir. Ancak 1000 mg dozuna çıkıldığında ASA duyarlı hastaların %28'inde solunum bulgularına neden olur (22). Christie ve ark. (23) ASA ile oluşan bronkospazmdan 6 saat sonra idrarda LTE₄ düzeylerinin arttığını göstermişlerdir. Ayrıca ASA duyarlı hastalarda nazal mukozada bulunan lökositlerden artmış oranda s-LT reseptörlerinin salınması hava yolu aşırı duyarlılığına neden olabilir. ASA desensitizasyonu ile nazal mukozal lökositlerinde s-LT reseptör sayısı normal düzeylere gelmektedir (24). Başka bir çalışmada da ASA'ya bağlı astımlılarda hava yolu mukozasında infiltrate eden lökositlerde LTC₄ sentaz ekspresyonunun fazla olduğu bulunmuştur. Bu artışa, LTC₄ sentazı kodlayan genin promoter bölgesinde oluşan poliformizmin neden olabileceği düşünülmektedir (25). Arm ve ark. (26) tarafından yapılan çalışmada ASA duyarlı astımlılarda inhalasyon yoluyla verilen histamin ve LTE₄'e hava yolu duyarlılığı değerlendirildiğinde histamine yanıt ADA'lı grupta, ADA'lı olmayan gruptan farklı bulunurken, LTE₄'e karşı hava yolu aşırı duyarlılığının yaklaşık 13 kat fazla olduğu gözlenmiştir. Bu da patogeneizde sadece s-LT düzeyinin artmış olmasının değil, aynı zamanda bu olgulardaki bu uyarılara karşı hava yollarının duyarlılığının belirgin bir şekilde artmış olmasının da önemli katkısı olduğunu göstermektedir. Bu nedenle sadece bronkospazm yapıcı LT'lerin artmış üretimi değil, aynı zamanda hava yollarının aşırı duyarlılığı da bu hastalarda ASA duyarlılığından sorumlu gibi görülmektedir.

Sisteinil lökotrienler en kuvvetli bronkokonstrüktör ajanlardır (27-29). Bunun yanı sıra hücre geçirgenliğini artırması, inflamasyon alanına eozinofil göçünü sağlaması, mukus sekresyonunda artışa neden olması ve bronş duvarında hipertrofi ve hiperplaziye neden olması sonucu ADA patolojisinde önemli bir rol üstlenirler

(27-29). s-LT artışının hücrel kaynağının yapılan bronş mukoza biyopsilerinde mast hücresi ve eozinofiller olduğu gösterilmiştir (30-32).

Son birkaç yılda ADA patogenezinde yeni bir bulgu olarak inflamatuvar özellikler taşıyan 15s-HETE (hidroksieikosatetraenoik asid)'nin arttığı, anti-inflamatuvar etkinlik gösteren lipoksinin bazal düzeylerinin ise azalmış olduğu saptanmıştır (33-36). ASA duyarlı astımda hastalığın klinik seyrinin ağır oluşundan koruyucu etkinliği gösterilmiş lipoksin düzeyinin azalması sorumlu tutulmaktadır. Oluşan bu Lipoksin-A₄ “*aspirin triggered lipoksin=15-Epi-LXA₄*” olarak tanımlanır. Lipoksinler nötrofillerin migrasyonunu ve adezyonunu inhibe ederler. Bu etkileri ile anti-inflamatuvar bir özellik gösterirler (37).

NSAİİ'lara bağlı solunum sistemi semptomlarının patogenezinde mast hücreleri ve eozinofillerin sorumlu oldukları da düşünülmekte ve bu hastaların burun sitogramlarında, burun ve bronş mukoza biyopsilerinde ve bronkoalveoler lavaj sıvılarında mast hücrelerinin ve eozinofillerin arttığı saptanmıştır (38, 39). ADA'lı olgularda da hava yollarında kronik bir inflamasyonun ADA'lı olmayan olgular ile karşılaştırıldığında daha ağır olduğu, ADA'lı olguların bronş biyopsi değerlendirmelerinde eozinofil sayısı ADA'lı olmayan olgulardan beş kat, normal-kontrollerden ise 15 kat fazla bulunmuştur. Mast hücresinin de sadece ASA ile provokasyon sonrası değil, stabil durumda da aktive olduğu ve metabolitleri olan PGD₂ ve triptazın bazal düzeylerinin yüksek olduğu gösterilmiştir. Eozinofilik katyonik protein (ECP) ve major bazik protein (MBP) artışı, serum fosfolipaz A₂ aktivitesinde artış, histamin ve triptaz artışı, PGD₂ artışı sorumlu tutulur iken, viral infeksiyonlar da şüpheli nedenler arasında yer almaktadır (40-43).

ADA'daki persistan hava yolu inflamasyonundan kronik bir viral infeksiyonun ve oto-antijenin sorumlu olduğu da düşünülmüştür (28, 40).

2. 5. Klinik

Sıklıkla kliniğin ortaya çıkışı 20-40 yaş arasında gerçekleşir. Kadın olgularda daha fazla görülür. İlk astım semptomları, genellikle uzun süredir devam eden üst nazal semptomlardan sonra başlar ve bunu da ASA intoleransı izler. Başlangıçta epizodik olan rinit, daha sonra perennial hale gelir. Bu dönemde hastada nazal polip ve/veya sinüzit saptanır. Önceleri sigara dumanı, kokular, toz, duman, nem, viral

infeksiyonlar varlığında tetiklenen astım atakları daha sonra triadın yerleşmesi ile birlikte ASA ve/veya diğer non-steroidal antiinflatuvar ilaçların alınması ile de oluşmaya, rinit tablosu yerleştikten 2 ile 15 yıl sonra astım ve son olarak da analjezik intolerans ortaya çıkar (44).

On Avrupa ülkesinde 500 ASA duyarlı astımlının incelenmesi ile rinitin ilk ortaya çıkan semptom olduğu ve ardından genellikle aylar, bazen de yıllar sonra astım, ASA duyarlılığı ve nazal polipizisin kliniğe eklendiği saptanmıştır (45). Bazen değişik klinik tablolar da görülebilir; örneğin rinit hiç olmayabilir veya astım diğer semptomların hepsinden önce başlayabilir.

Klinikte analjezik alınandan yaklaşık 15-180 dakikalık bir latent dönem sonrası şiddetli bir burun akıntısı başlar. Daha sonra baş ve boyunda maküler eritem, konjunktival irritasyon ve/veya bulantı-kusma, intestinal kramplar, diyare ve değişen derecelerde astım atağı ortaya çıkar (27, 28). Anamnez ile ASA intolerans diyebilmek için hastanın en az 2 reaksiyon geçirmiş olması ve reaksiyonların ilaç alınandan sonra en geç 3 saat içinde ortaya çıkıyor olması gerekir. ASA intolerans bir kere başladığı zaman kural olarak ömür boyu sürer. Nadir olarak birkaç olguda kaybolduğu bildirilmiştir (46).

ASA intolerans olan astımlardaki nazal polip insidansı yapılan çeşitli çalışmalarda %50-100 arasında değişmekte olup, bu olgularda %80 ile %100 oranında sinüzit bulunduğu ve yılda ortalama 5.5 kez sinüs infeksiyonu geçirildiği rapor edilmiştir (44, 46). Rinite ısı değişimi ve nonspesifik iritanlarla şiddetlenen vazomotor rinit tablosu hakimdir. Önceleri mukozal kalınlaşma olarak görülen sinüzit, ilerleyerek tedavisi zor pansinüzitelere dönüşür. ASA duyarlı hastaların solunum mukozasında kronik inflamasyon mevcuttur. Bu inflamasyon ASA kullanımından bağımsızdır ve süreklilik gösterir. Nazal polip ve sinüzit, ASA'yi tolere eden olgulardakinden daha yaygındır ve agresif seyirlidir (47). Nazal polipler opere edilse bile nüks sıktır. Bu olguların nazal biyopsilerinde inflamatuvar hücrelerde apoptozisin azaldığı gözlenmiş ve bu azalmanın poliplerin daha ağır seyretmesinden sorumlu tutulmuştur (48).

Rinit ve polip tedavisinde topikal ve sistemik steroidler kullanılır. Antihistaminik ve kromonların belirgin bir etkisi yoktur. ADA'lı olgularda sinus infeksiyonları yeterli iyileşmenin sağlanması için mutlaka en az altı-sekiz hafta

uygun antibiyotik rejimi ile tedavi edilmelidir. Bu tedaviye yanıt vermeyen vakalarda polipektomi yapılır. Ancak cerrahi sonrası tekrarlama oranı yaklaşık %40'tır.

Hastalığın seyri sırasında doz bağımlı olan reaksiyon ve buna bağlı olarak yüksek dozlarda çok ciddi reaksiyonlar oluşur. Genelde çok ciddi reaksiyonlar ilk bir saatte ortaya çıkmaktadır. Bu olgularda sadece ASA değil, COX-1 enzimini inhibe etme oranında diğer NSAİİ'ler de astmatik yanıtta neden olurlar. Bu ilaçların reaksiyona yol açma oranları kişinin duyarlılığına, ilacın COX enzimini inhibe etme oranına ve ilacın dozuna bağlı olarak değişir. Bu olgularda astım, ASA alması bile genelde zor kontrol altında tutulan, ciddi şiddettedir (49). Yaklaşık %50'sinde sistemik steroid ile astım kontrol altında tutulabilmektedir. Ağır astım ile yoğun bakıma alınıp mekanik ventilatöre bağlanan olguların %14'ünün ADA'lı olgular olduğu, bunların %8'inde astım atağının nedeninin ASA alımı olduğu gözlenmiştir (50). Bu olguların astım tedavisi kronik astım tedavisinden farklı olmayıp, reaksiyon gösterdikleri analjezikleri ve yapısal olarak yüksek oranda çapraz reaksiyon gösteren diğer non-steroidal antiinflamatuarları almamaları önerilir. Bunun dışında analjezik ya da antiinflamatuar ilaç ihtiyacı duydukları durumda kullanmaları için COX-2 enzimini inhibe eden ilaçlar veya zayıf COX-1 enzim inhibitörü olan parasetamol ile oral provokasyon testi sonrası kullanmaları ve uzman kişiler tarafından yapılan ASA desensitizasyon tedavisi önerilir.

Bunun dışında ADA'lı olguların %25'inde analjezik kullanımı sonrası ürtikeryal lezyonların çıktığı bildirilmiştir. Atipik bulgular olarak ADA'lı olgularda ASA kullanımı sonrası miyokardiyal iskemi, abdominal ağrı geliştiği de bildirilmiştir (16).

2. 6. Tanı

Her hastalıkta olduğu gibi "öykü" ADA'dan şüphelenmenin ve araştırmanın ilk basamağını oluşturur. Astım, rinit, nazal polipozisi olan bir olguda ASA ve/veya NSAİİ alımının takiben reaksiyonların ortaya çıkması tanıya ADA'ya doğru yönlendirir. İlaç kullanımı ile reaksiyon gelişme hikayesi ikiden fazla ise oral ASA provokasyon testleri yapılarak hastalığın doğrulanması gereklidir. En az iki kez reaksiyon olması ASA intoleransı için bir ölçüt kabul edilir. Çünkü hastanın analjezik alışı bir ko-insidans olup, başka nedenli nefes darlığında artış olmuş

olabilir. Ancak bu testler sırasında tehlikeli astım ve anafilaksi atakları tetiklenebileceğinden, testler bu konuda deneyimli merkezlerde ve hastanede, yakın gözlem altında ve herhangi bir ciddi yan etki olduğu takdirde hemen müdahale edilebilecek şartlarda yapılmalıdır. Test öncesi bütün hastaların fizik muayeneleri yapıp, bazal spirometri ve kan basıncı değerleri saptanır.

ASA'nın verilmiş yoluna göre 4 farklı uyarı testi geliştirilmiştir. Bu yöntemler ilacın ağızdan verilmesi (oral provokasyon testi), inhalasyon yoluyla bronşlara püskürtülmesi, nazal mukozaya püskürtülmesi, intravenöz yolla verilmesi.

2. 6. 1. Oral Provokasyon Testi:

Hastaya 1. gün plasebo, 2. ve 3. gün ise artan dozlarda ASA verilir. İlk gün plasebo verilmeden önce bazal solunum testi yapılır. Plasebo verildikten sonra aralıklı solunum testi tekrarlanır. Amaç; hastanın bazal FEV1 değerinin ve FEV1'deki gün içi değişimlerin saptanmasıdır. Plasebonun uygulandığı gün FEV1 değerinde bir öncekine göre %15'den fazla azalma bulunursa hava yollarının stabil olmadığı düşünülür ve teste devam edilmez. İkinci gün hastanın duyarlılığına bağlı değişimle birlikte 25 mg veya 30 mg dozunda ASA ile teste başlanır. ASA artan dozlarda ve 3 saatte bir verilir. Üçüncü gün 650 mg ASA verilmesi ile test sonlandırılır. FEV1 değerleri plasebo ve ASA alınan gün, saat başı ölçülür. Test sırasında burun, göz, larinkste ve/veya solunum sisteminde oluşabilecek semptomlara göre hasta değerlendirilir. Ayrıca FEV1'deki düşmeler gözlenir. Her test dozundan sonra klinik gözlem yapıp, kan basıncı ve spirometri ölçümleri tekrarlanır ve bir sonraki doza geçilir. Test ya pozitif reaksiyonun ortaya çıkmasıyla, ya da en yüksek test dozuna ulaşıncaya sonlandırılır. En yüksek dozdan sonra kan basıncı ve spirometrik ölçümlere birer saat arayla 3 saat daha devam edilir. Bu, Stevenson ve arkadaşlarının (15) uyguladığı bir çok merkez tarafından uygulanan bir protokoldür. Bazı merkezlerde ise daha farklı protokoller uygulanmaktadır.

2. 6. 2. Bronşiyal L-ASA Testi:

Kristalize Lizin-Aspirin (L-ASA), %0,9 NaCl içerisinde çözündürülür ve doz kontrollü jet nebulizerle inhalasyon yaptırılır. Hastanın bazal değerlerinin görülmesi için öncelikle suda çözülmüş lizin solusyonu bronşlara uygulanır, ardından 30 dakikada bir giderek artan dozlarda Lizin-ASA inhale ettirilir. Her bir dozun 10. 20.

ve 30. dakikalarında FEV1 ölçülür. FEV1'de %20'den fazla azalma oluşmuşsa veya ekstrebronşiyal semptomlar gelişmişse teste devam edilmez. Hastada herhangi bir bulgu oluşmazsa total 182 mg'lık doza ulaşılarak test sonlandırılır (25).

2. 6. 3. ASA'nın Nazal Yolla Verilmesi:

ASA buruna püskürtülür. ASA duyarlılığını saptamada tarama testi olarak kullanılabilir. Uygulama sonrası nadiren sistemik semptomlar oluşur. Bu semptomları kontrol altına almak ağız yoluyla uygulamaya göre daha kolaydır. Astım kontrol altında olmayan ve FEV1 değerleri %70'in altında olan hastalar ve ASA ile sadece burun semptomları geliştiren hastalara burun yoluyla ASA uyarısı yapılır (51).

Provokasyon testleri arasında duyarlılık ve özgüllüğü en yüksek olan ağız yoluyla yapılandır. ASA'nın burun yoluyla verilmesinin duyarlılığı ve özgüllüğü ağız yoluyla olana göre daha azdır. Ancak yine de %80'lerin üzerindedir. Günümüzde ağız yoluyla yapılan ASA uyarı testleri tanıda altın standart olarak kabul edilmektedir. Bronşiyal ve nazal uygulama Avrupa ülkelerinde kullanılmaktadır. Ancak, Amerika Birleşik Devletlerinde henüz rutin uygulamaya girmemiştir. İntravenöz yol sadece Japonya'da uygulanmaktadır. Uyarı testlerinde özellikle ağız yoluyla uygulamalarda çok şiddetli astım atakları oluşabilir. Bu nedenle testler yoğun bakımda ve bu konuda tecrübeli kişiler tarafından yapılmalıdır.

2. 6. 4. İn Vitro Tanı Yöntemleri

ASA duyarlılığı tanısında pratikte kullanılması önerilen in vitro olarak kanıtlanmış herhangi bir tanı yöntemi bulunmamaktadır. Yakın zamanda ADA'lı olgularda ekshale edilen havada "eikosanoid" düzeyinin değerlendirilmesinin sonuçları gelecekte kullanılacak bir yöntem olması yönünden umut verici görünmektedir (52).

2. 7. Tedavi

ASA desensitizasyonu: ASA, çok düşük dozlardan başlanarak kısa aralıklarla yanıtızlık oluşturuluncaya kadar verilir. Daha sonra belli bir idame dozda kullanılmaya devam edilir. ASA desensitizasyonun etki mekanizması bilinmemekte olup, bilinen bir immün yanıt olmadığı için oluşan desensitizasyon gerçek bir desensitizasyon değildir. Bir-beş gün içinde ASA'ye yanıtızlık başlar, yedi günde

kesinleşir. Desensitizasyon oral, nazal, inhalasyon ve intravenöz yolla yapılabilir. Bu işlemin bu konuda uzmanlaşmış merkezlerde yapılması gereklidir. İlaça beş-yedi gün ara verildiğinde tekrar eski klinik tablo ortaya çıkar. İdame tedavide 100 ile 1300 mg'lık dozlar aralıksız olarak her gün uygulanır. Genelde üst ve alt hava yollarında etkili olması için günde iki kez 650 mg dozunda uygulanması önerilir. En düşük izin verilen doz 81 mg'dır. Bu tedavi ile olguların yıllık sinüzit sayısında azalma, koku duyusunda artma, sistemik steroid ihtiyacında ve astım nedeni ile hastaneye yatışlarında azalma gözlenir. Yapılan çalışmalarda kronik ürtikerli olgularda desensitizasyon etkili bulunmamıştır (53-55).

ASA desensitizasyonundan hemen sonra burun sıvısında histamin ve LTC₄'ün normal düzeylere indiği ve ayrıca LTE₄'e karşı bronş hiperreaktivitesinin 20 kat azaldığı saptanmıştır (56-62). Uzun süreli izlemde monositlerde LTB₄ sentezinin azalarak normal sınırlara geldiği, LTE₄ seviyesinin ise yine azaldığı, ancak hiçbir zaman normal sınırlara inmediği bulunmuştur. Bu bulgulardan yola çıkarak ASA ile desensitize edilen kişilerde ASA'nın COX-1 inhibisyonu yapmaya devam ettiği, ancak yanısıra fosfolipaz A₂'yi de inhibe ettiği savunulmaktadır. Aynı zamanda desensitizasyon ile bronş s-LT₁ reseptörlerinin azaldığı ve sonuçta ortamdaki LTE₄'e körleşmiş bir yanıt oluştuğu bildirilmiştir (24).

ASA desensitizasyonu yapılan hasta ASA'yi ve yanısıra ASA ile çapraz reaktivite veren diğer NSAİİ'yi herhangi bir semptom geliştirmeden kullanabilir. Stevenson ve ark. (54) desensitizasyon yapılan ASA duyarlı astımlılarda ilacın her gün kullanılması ile astım kliniğinde ve sinüzit semptomlarında belirgin iyileşmeler olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada ASA duyarlı astımlıların intranasal ve sistemik kortikosteroid ihtiyaçlarının azaldığı da saptanmıştır. Berges-Gimeno ve ark. (63) ASA duyarlı astımlılarda günlük 1300 mg ASA kullanımı ile steroid ihtiyacında ve sinüzit atak sıklığında azalma olduğunu bildirmişlerdir.

Yapılan az saydaki çalışmada, her gün belli dozda ASA alınmasına dayanan desensitizasyondan sonra, alt ve üst solunum yolları inflamasyonunda belirgin klinik düzelme saptanmıştır. ASA desensitizasyonu ile mediyatör salgısındaki azalma biyokimyasal verilerle de desteklenmiştir. Desensitizasyon için kesin belirlenen bir doz olmayıp, farklı çalışmalarda farklı dozlar, farklı protokoller ve farklı süreler kullanılmıştır (64, 65). Hastalarda belli bir dozda reaksiyon oluştuğundan sonra düzelme

2-24 saat içinde olmaktadır. Desensitizasyon için aynı provokasyon dozu 3 ile 24 saat arasında değişen aralıklar ile reaksiyon ortadan kalkıncaya kadar verilmektedir. Daha sonra ise hasta 1300 mg ASA dozunu herhangi bir yan etki olmaksızın kullanabilinceye kadar doz yavaş yavaş arttırılır. İkiye bölünmüş olarak alınan günlük 1300 mg'lık (650 mg x 2) dozun solunum yollarındaki inflamasyonu azaltıp, nazal dekonjesyon sağladığı gösterilmiştir.

Rutin olarak önerilmeyen ancak araştırmalar sonucu olumlu sonuçlar alınan bazı tedaviler arasında bir PGE₁ analogu olan misoprostol, asiklovir, salmeterol, roksitromisin ve lipoksin analogları bulunmaktadır (66-70).

2. 8. Lenfositler

CD4⁺ ve CD8⁺ T hücreleri ilk olarak gebeliğin 14. haftasında karaciğer ve dalakta görüldükten sonra kanda sayıları artmaya başlar. Fetal hayatta CD4/CD8 oranı da ortalama 3.5'tur (71). Doğumda bu oran 2.5 düzeyine inmiş bulunur. Erişkindeki düzeye ise 4 yaş civarında gelmiş olur. Kemik iliğinden timus korteksine ulaşan kök hücrelerden gelişen ilk hücrelerde (pro-T) CD fenotipi oluşmamıştır (CD2⁻, CD3⁻, CD4⁻, CD8⁻). Hücreler korteksten medullaya hareket ederler ve gelişimleri sırasında pre-T hücrelerinde CD2⁺, CD3⁻, CD4⁻, CD8⁻ bulunur. Bunu takiben CD2⁺, CD3⁺, CD4⁺ ve CD8⁺ fenotipine sahip hücreler gelişir (72). CD4⁺CD8⁺ timositler timustaki olgun popülasyonu oluştururlar. Timositlerin timusta olgunlaşma süreci 3 gün içinde tamamlanır. Olgunlaşma sırasında timositlerin %90'ndan fazlası apoptoz ile ölür (73). 1966 yılında Metcalf ve ark. (74) timusun uzun yaşam süresine sahip lenfositlerin depolandığı bir organ olmadığını, hızlı bir lenfopoiesisin yeri olduğunu keşfettiler. Her gün tüm timositlerin %1'i ve günlük yapımının %3 kadarı timusu terk eder. Geri kalan %97'si timusta ölür. MHC klasII antijenleri sadece aktive T hücrelerinden salınır.

Dolaşımdaki lenfositlerin %60-80 kadarını T lenfositleri oluştururlar. Periferik kandaki T hücrelerinin üçte ikisi CD4, üçte biri CD8 yüzey markerleri taşıyan lenfositlerdir. Kandaki lenfositlerin %35-60 kadarını heterojen bir popülasyona sahip CD4⁺ Th subset hücreleri oluştururlar. Bunlar IL-2 sentezleyen ama henüz IL-4 veya IFN- γ sentezlemeyen naif CD4⁺T hücrelerini içeren bir havuz oluştururlar ve gelecek immün cevaplara göre, IFN- γ sekrete eden Th₁ veya IL-4 sekrete eden Th₂ fenotipine farklılaşırlar (75). Th₁ ve Th₂ fonksiyon farklılığı

önceden belirlenemez. Farklılaşma onları bu tiplerden birine yönlendiren sinyallerle bağlıdır ve sitokinlerle sıkıca kontrol edilir (76). Th₂ hücreleri oldukça fleksibldrlar ve IL-12 etkisi altında Th₁ fenotipine dönebilecekleri yeni olarak gösterilmiştir (72, 77).

Ancak şu var ki, Th₁ hücrelerinin asıl fonksiyonu, Th₁ tipi sitokinlerle makrofajların fagositoz ve mikrop öldürme yeteneklerini güçlendirerek, infeksiyonlara karşı savunmayı oluşturmaktadır. Th₂ subset hücreleri ise, B hücrelerini, IgM, kompleman fikse etmeyen IgG₄ ve IgE sentezine yöneltirler. Th₂ subpopulasyonundaki lenfositler, IgE dahil antikor yapımına etkin olarak katılırlar ve eozinofiliyi indüklerler. Th₂ hücreleri tarafından salınan sitokinler (GM-CSF, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13) ve bunlara cevap olarak diğer hücreler tarafından üretilenler ya da Th₂ ilişkili doku hasarı allerjik hastalıkların çoğu patofizyolojik olaylarda önemlidir (78). Th₂ sitokinleri ile eozinofil infiltrasyonu arasında sıkı bağlantı vardır (79). Geç fazdaki CD4+ T hücre (Th₂) sayısında artışla mukozayı infiltre eden eozinofil sayısındaki artışın korele olduğu gösterilmiştir. Th₂ kaynaklı IL-3, IL-5 ve GM-CSF eozinofil yaşam süresini uzatır.

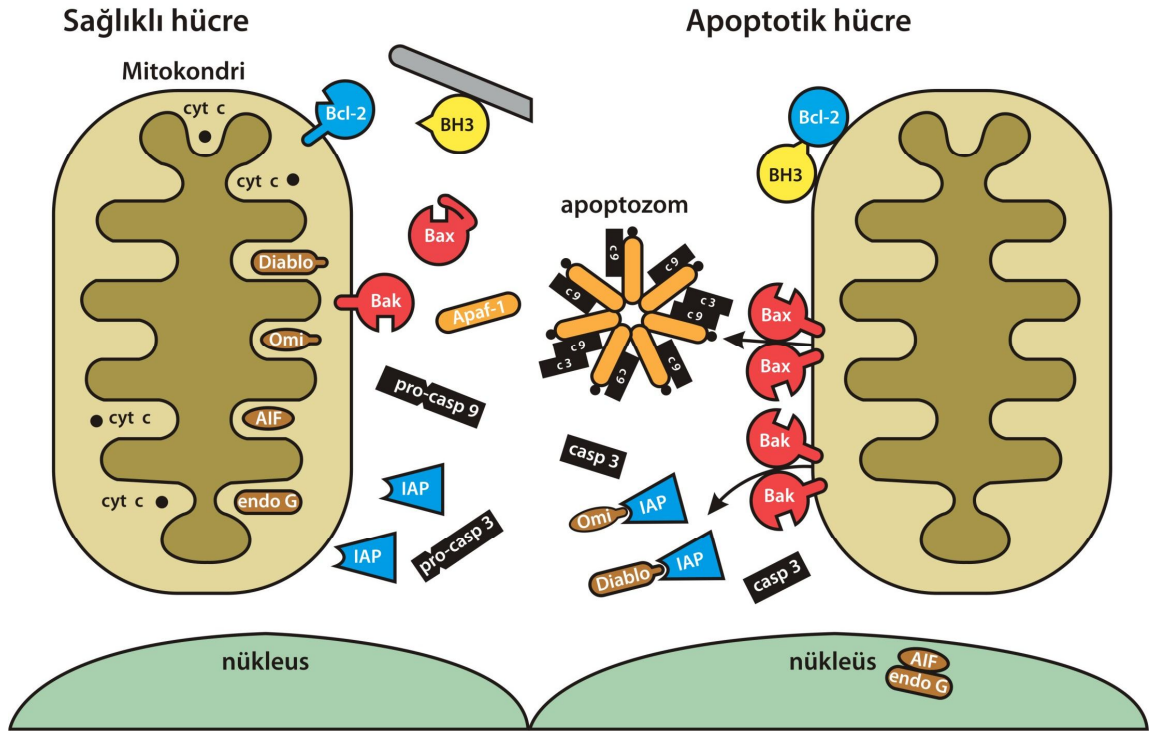
CD8+ yüzey markeri taşıyan subpopulasyonda geç duyarlık reaksiyonların ve antikor yapımını inhibe eden T supresör hücreleri ile “sitotoksik” fonksiyon yapan efektör T hücreleri bulunur. CD8+T hücre subsetinin de CD4+T hücrelerinde olduğu gibi, iki polar gruba farklılaşabileceği anlaşılmaktadır. Bu hücreler genel olarak MHC klas-I molekülleri ile sunulan peptidleri tanırlar.

2. 9. Apoptozis

Vertebralı hücrelerinde ölüm başlıca iki yoldan olur. Nekroz ve apoptoz. Nekroz hücrelerde iskemi, yüksek oksijene maruz kalma ve enfeksiyon gibi biyolojik, fizik ve kimyasal etkilerle ortaya çıkan patolojik bir süreçtir. Nekrozu çok defa inflamatuvar bir cevap izler. Buna karşılık apoptoz, fizyolojik hücre ölümü olup hücreden hücreye genetik olarak aktarılır. Hücrenin kendisini öldürmeye karar verdiği ve genetik olarak kontrol edilen aktif ve dinamik bir olaydır. Hem fizyolojik, hem de patolojik durumlarda ortaya çıkmaktadır. Apoptotik hücreler hızlı bir şekilde fagosite edilir. Bu fagositoz, ölü hücreden immünojenik ve toksik intrasellüler materyalin salınmasını önler (80-82).

Nükleuslu birçok hücrenin yaşamı apoptoz ile sona erdirilir. Bütün bu hücreler, kendilerini tahrip etmeye hazır genleri ve proteinleri (p53, c-myc, Fas, FasI) sentezlerler. Apoptozu önleyenler genler Bcl-2 ailesi (Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-W, Bfl-1, Bag-I, Mcl-I ve A1) içinde, apoptozu indükleyenler Bax, Bak, Bcl-x, Bad, Bid, Bik ve Hrk'dir. Bcl-2 gen ailesi tarafından kodlanan bir çok protein, ağırlıklı olarak mitokondrilerin dış membranında lokalize olmuştur.

Kaspazlar, zimojen (inaktif perkürsör) olarak sitoplazmada bulunan ve aktif merkezlerinde sisteinin yer aldığından sistein proteazlar olarak da adlandırılan bir grup enzimlerdir. Şu ana kadar 14 tanesi tanımlanmıştır ve çoğu apoptoziste rol almaktadır. Kaspazlar birbirlerini aktifleştirerek proteolitik bir kaskada sebep olurlar. Bazılar (kaspaz 2, 8, 9, 10) başlatıcı kaspazlar olarak bilinirken, bazıları da (3, 6, 7) efektör kaspazlar olarak bilinir (83). Başlatıcı kaspazlar apoptotik uyarıyla başlayan ölüm sinyallerini efektör kaspazlara iletirler. Başlatıcı kaspazların proteolitik bir kaskadın oluşmasında rolleri daha büyüktür. Bunlar, kendilerini aktive ederler ve bunu takiben efektör kaspazların da aktive olmalarını sağlarlar. İlk tanımlanan kaspaz, interlökin 1- β dönüştürücü enzim (ICE)'dir ve prokaspaz 1 olarak bilinir. Kaspaz kaskadı sitokrom-c'nin sitoplazmaya salınmasıyla prokaspaz-9'un aktivasyonu yoluyla aktifleştirildiği gibi, kaspazların kendileri de sitokrom-c'nin salınmasına neden olabilirler. Bir kaspaz inhibitör ailesi olan apoptozis inhibitörleri (IAP) kaspazları selektif olarak inhibe ederler. Bu şekilde apoptotik mekanizmayı durdururlar. Bu inhibitörler birçok malign hücreler tarafından aşırı eksprese edilmektedirler. IAP'leri ayrıca hücre siklusunu da etkileyerek apoptozisi durdurabilmektedirler (83). Kaspaz kaskadı tetiklenince hücre ölümü ile ilgili işlemler artık geri dönemez. Sonuçta aktifleşen kaspaz-3 bir taraftan sellüler ve nükleer proteinleri doğrudan degrade eder. Diğer taraftan da endonükleaz kaspaz-aktive DNAaz (CAD)'ları aktifleyerek kromozomal DNA'nın kırılmasına yol açar.



Şekil. 2.2. Apoptozis yolağı ve bu yolakta mitokondrinin rolü- Adams J.M (83)'den alınmıştır.

Sitokrom-c, mitokondri iç membranında bulunan elektron transport zincirinin bir proteinidir. Apoptozis sürecinde önemli bir yere sahiptir. Bu yüzden de sitokrom-c'nin mitokondriden sitoplazmaya salınması apoptozise giden bir hücrede irreversibl bir döneme girildiğini işaret eder. Sağlıklı hücrelerde Bcl-2 benzeri öncül proteinlerden uzakta tutulan BH3- proteinleri apoptotik hücrede bir zimojen olarak sunulur. Apoptotik bir sinyalden sonra, serbestleştirilmiş BH3- proteinleri mitokondri üzerindeki Bcl-2 ile birlikte ve mitokondri dış membranı üzerindeki Bak ve Bax oligomerlerinin etkisiyle mitokondrinin geçirgenliğine neden olur. Bu da sitokrom-c, sitoplazmik protein olan Apaf-1 (apoptotik proteaz aktivatör faktör-1) ve prokaspaz-9'un heptamerik formasyonunu arttıran kaspaz-3'ü aktifler. Ardından ATP'nin de katılımıyla apoptozom adı verilen bir kompleks oluşur (83). Serbestleşen *Diablo/Smac* ve *Omi/Htr2* sitozolde IAP'ı tutar, AIF ve endonükleaz-G nükleusa girer iken, DNA'da parçalanmaya yardım eder. Buraya kadarki mekanizma kaspaz-bağımlı apoptozisi gösterir. Oysa bağımsız apoptozisin varlığı da bilinmektedir.

Kaspaz bağımsız apoptozis yine mitokondriden salıverilen bir faktör olan AİF'ün etkisiyle gerçekleştirilir (83, 84).

Apoptozisin immün sistemde iki önemli fonksiyonu vardır; 1. Timus ve kemik iliğinde otoreaktif olan hücrelerin temizlenmesini sağlar. 2. Periferik immün sistemde lenfositlerin birikimini engeller. Lenfosit apoptozisinden sorumlu olan esas ajan Fas reseptör ve onun ligandı olan FasL (CD95L)'dir. Karşılaşılan antijen miktarı apoptozisin başlatılmasında etkilidir. Ne kadar çok antijen varsa, TNF gibi ölüm sitokinleri ve bu sitokinlerin reseptörlerinin ekspresyonu da o kadar artar. Ortamda sürekli antijen olmasının, lenfositlerin aşırı çoğalmasına yol açması apoptozisin başlaması ile engellenir (85, 86).

Apoptoz için ölüm sinyalleri, deksametazon, anti-tümör ilaçlar, toksinler, radyasyon, hipoksi, iskemi, şok, viral infeksiyonlar gibi stres yaratan birtakım hücre içi olaylarla da tetiklenebilir.

Apoptotik eozinofillerin inflamasyon derecesi ile ilişkisi daha çok astımlı hastalarda çalışılmıştır. Astımlı hastalarda yapılan çalışmalarda hastalık ciddiyeti ile ilişkili olarak BCL-2 proteininde artış olduğu ve balgamda BCL-2 ekspresyonunun değerlendirilmesinin hava yolu inflamasyonunun monitorizasyonunda yararlı olabileceği belirtilmektedir (87, 88).

Apoptozis, inflamatuvar hücrelerin yönetimi ve klirensinde kritik rol oynamakta, yaşam sürelerini düzenlemektedir (89). Apoptozisin azalması inflamasyonun kronikleşmesine ve hastalığın ciddiyetinin artmasına neden olmaktadır. Astımlılarda normal kişilerle kıyaslandığında eozinofillerin apoptozisinde azalma olduğu bilinmektedir. Allerjik inflamasyonda eozinofillerin yanı sıra T hücrelerinde yaşam süresi uzamaktadır. IL-2, IL-4, IL-15, aktive ve Fas sensitif T hücrelerinde bile apoptozisin önlenmesinde önemli sitokinlerdir (90). Ayrıca aktive T hücrelerden salınan sitokinler ile eozinofillerin ömrü uzar. Bu yüzden eozinofil ve T lenfositlerin, ya da her ikisinin apoptozisinin indüklenmesi allerjik inflamasyonun kontrolünü sağlar, tamir mekanizmaları düzenlenir (91). Astım tedavisinde kullanılan kortikosteroid, teofilin, fosfodiesteraz-IV inhibitörleri gibi ilaçlar eozinofil ve T lenfositlerde apoptozise yol açmaktadır (89, 91). Apoptozisin azalması inflamasyonun kronikleşmesine ve hastalığın ciddiyetinin artmasına neden olmaktadır. Hava yolunda apoptozisin azalmasının bir diğer nedeni

çeşitli inflamatuvar hücre tiplerinin yaşam sürelerinin artışı ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (87). Eozinofillerin yanında lenfositler de hava yollarında oluşan patogeneze sorumlu başlıca hücrelerdendir. Ayrıca T lenfositler (Th_2) sitokinleri aracılığıyla nötrofil, mast hücresi gibi diğer inflamatuvar hücreleri de etkileyerek, bu hücrelerin lokal infiltrasyonları yoluyla allerjik inflamasyonda orkestra şefi rolünü üstlenirler (92).

Bazı çalışmalarda T lenfositlerin (özellikle $CD4+$ hücrelerin) defektif apoptozisinin, allerjik astımlı hastalarda aktive T hücrelerinin yaşam süresinin uzamasını açıklayabileceği ileri sürülmüştür (92, 93). Ayrıca astımlı hastalarda aktive lenfositlerin apoptozisinde azalmanın inflamasyonun sürmesindeki önemi üzerinde durulmaktadır.

2. 10. Sitokinler

İnterferonlar, virus, bakteri, parazit ve tümör hücreleri gibi yabancı ajanlara karşı organizmanın immün sisteminin ürettiği glikoprotein yapısında doğal proteinlerdir. Sitokin olarak bilinirler. $IFN-\gamma$, aktive T lenfositlerinin bir ürünüdür ve bilinen kaynaklar $CD4+$, $CD8+$ T lenfositleri ve NK hücreleridir (94-97). $IFN-\gamma$ birçok hücre üzerinde değişik derecelerde immünoregülatuvar etkiye sahiptir. Humoral immüntenin gelişimini Th_2 hücrelerini inhibe ederek sağlar (94, 97, 98). $IFN-\gamma$ üretimi $IL-2$ ve $IL-12$ etkisinde artar iken, $IL-4$ ve $IL-10$ etkisi ile inhibe edilir (94). Th_2 tipi sitokinler allerjik inflamasyonu başlatır iken, $IFN-\gamma$ ise bu etkiyi güçlü bir şekilde antagonize eder. $IFN-\gamma$ proinflamatuvar bir etkiye sahiptir. Sitokin ve adezyon moleküllerini açığa çıkartmak için hava yolu epitelyal hücrelerini aktive eder (99, 100). Endotoksin veya açığa çıkan IgE ile uyarılan aktive alveolar makrofajlardan $TNF-\alpha$ serbestleşmesini, makrofaj ve epitel hücrelerinde MHC class I ve II salınmasını sağlar (101). $IFN-\gamma$ güçlü ve göreceli olarak spesifik $IL-4$ ve IgG_4 inhibitörüdür. $IL-1$, PAF, H_2O_2 sekresyonunu artırır. Monositlerden $IL-10$ üretimini azaltır. $IFN-\gamma$, hücre sel immün yanıtta allerjik inflamasyon ve IgE sentez inhibisyonunda anahtar rol oynar. Monosit/makrofajlar, dendritik hücreler, epitelyal, endotelyal hücreler üzerinde bulunan klas-II moleküllerinin upregülasyonunu sağlar. Böylece onların antijen sunabilme özelliklerine katkıda bulunmuş olur. Astmatik kişilerde hastalığın şiddeti ile orantılı olarak T hücreleri tarafından sentezlenen $IFN-\gamma$ miktarı azalmıştır (102). $IFN-\gamma$ allerjik eozinofiliyi ve hava yolu hiperaktivitesini

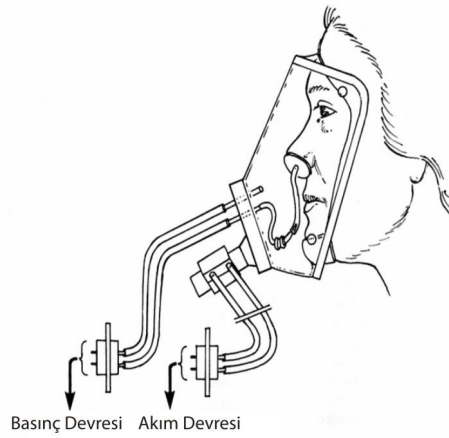
muhtemelen IL-10 oluşumunun artmasıyla inhibe eder (103). Astımlı kişilerde yapılan immünoterapi serumunda ve burun biyopsi örneklerinde T hücreleri tarafından sentezlenen IFN- γ düzeyini artırır (104). Kortikosteroid tedavisi astmatik hava yollarında IFN- γ salınımını artırır iken, kortikosteroide dirençli hastalarda IFN- γ düzeyini azaltır (105, 106).

İnterlökinlerin de diğer hücre fonksiyonlarını artırıcı ve azaltıcı etkileri vardır. En önemli inhibitör etkisi sağlam ve neoplastik hücrelerin gelişmesini yavaşlatır (97). İnterlökin-2, hücre aracılı immünitede T *helper* hücre tip 1 cevabından sorumludur. IL-4, Th₂ aktivitesinin belirleyicisi olarak kullanılabilir (99). İnterlökin-4 (IL-4), CD4+ T lenfositlerinin alt grubu olan Th₂ hücreleri, mast hücresi öncülleri tarafından sentezlenen 15-19 kDa molekül ağırlığında glikoprotein yapısında bir sitokindir. İlk olarak 1982'de keşfedilmiştir. Bundan 4 yıl sonra, nükleotid dizileri izole edilerek farelerde B hücre stimülatör faktör-1 (BCSF-1) olarak bilinen protein ile benzerliği ortaya konuldu (107). IL-4'ün birçok biyolojik fonksiyonu vardır. B ve T hücre proliferasyonunu stimüle eder. CD4+T hücrelerinin Th₂ hücrelerine farklılaşmasını sağlar. Humoral ve kazanılmış immünitede allerjik inflamasyonun gelişiminde anahtar rol oynar. Th₁ CD4+T lenfositlerinin IFN- γ sentezini düzenler. IL-2'nin indüklediği T hücre proliferasyonunu engeller. IL-4, solubl CD23 üretimiyle B hücreleri üzerine büyüme faktörü etkisine sahiptir ve proliferasyonunu sağlar. Aynı zamanda B hücre diferansiyasyonuna sebep olarak IgE, IgM ve IgG₁ sentezini sağlar. IL-4, IgE aracılı immün cevap hücre yüzeylerinde bulunan IgE reseptörlerinin upregülasyonunu sağlayarak güçlendirir. Allerjik akciğer inflamasyonunun gelişiminde bir başka önemli nokta, IL-4'ün Th₂ lenfositlerinin oluşumunu artırabilmesidir. Th₂ lenfositleri IL-4, IL-5, IL-9 ve IL-13 salgılatır. Allerjik hastaların bronkoalveolar sıvısında ve serumunda IL-4 düzeyinde artış olduğu saptanmıştır (108).

2. 11. Rinomanometri

Rinomanometri aktif veya pasif olarak yapılabilir. Pasif yöntemde ölçüm yapacak kişi nefesini tutar ve belli bir hızda hava akımını buruna pompalar. Aktif yöntemde hastanın kendi soluğu kullanılır. Fizyolojiye daha uygun olduğu için günümüzde tercih edilen metod budur. Aktif anterior rinomanometride basıncı hisseden tüp bir taraf burun deliği önüne hava kaçağı olmayacak şekilde bir bantla

tespit edilir. Hastanın ağız ve burnunu içine alan bir maske hastanın yüzüne oturtulur. Hasta burundan nefes alır verir. Basınç tüpünün olduğu taraf burun deliğinden solunum yapılamayacağından ölçüm tüpünde oluşan basınç, karşı tarafın basıncına eşittir. Bir burun deliği bant ile tıklandıktan sonra, bu taraf kanülün uzantısı gibi görev yapmakta ve kanül ucundaki basınç (P1), nazofarenksteeki basınca (P2) eşit olmaktadır. Bir basınç transdüktörü basıncı elektriksel sinyale çevirir. Transdüktör uygun bir elektronik devre ile bağlantılıdır. Basıncıdaki değişiklikler uygun voltaj değişikliği şeklinde ortaya çıkar ve bu da kayıt edici bir cihaz tarafından okunur (109).



Şekil-2.3. Anterior rinomanometri örneği

Uluslararası standartlara göre direnç 75 Pa ve 150 Pa referans basınçta ölçülür. Rinomanometrik ölçümlerde geçerli olan total nazal hava yolu direncidir, ve normal değerleri 0.12-0.33 Pa/cm³/sn arasında değişmektedir (110)

2. 12. Astım Kontrol Testi

Astım kontrolünün değerlendirilmesinde kullanılan anketlerden biri validasyonu yapılmış olan AKT'dir. Ankette yer alan sorular şunlardır;

1. Son 4 hafta içerisinde astımınız işte, okulda veya evde yapmak istediklerinizi ne kadar etkiledi?

(Tamamen-1, Çoğunlukla-2, Bazen-3, Nadiren-4, Hiçbir zaman-5)

2. Son 4 hafta içerisinde ne kadar sıklıkla nefes darlığı hissettiniz?

(Günde bir kezden fazla-1, Günde bir kez-2, Haftada 3-6 kez-3, Haftada 1-2 kez-4, Hiçbir zaman-5)

3. Son 4 hafta içerisinde astım şikayetleriniz kaç kez gece veya sabah normal kalkış saatinizden önce uyandırdı?

(Haftada en az 4 gece-1, Haftada 2-3 gece-2, Haftada bir kez-3, Bir veya iki kez-4, Hiçbir zaman-5)

4. Son 4 hafta içerisinde rahatlatıcı inhaler cihaz veya salbutamol türü nebulizer ilaç kaç kez kullandı?

(Günde 3 kez veya daha sık-1, Günde 1-2 kez-2, Haftada 2-3 kez-3, Haftada 1 veya daha fazla-4, Hiçbir zaman-5)

5. Son 4 haftadaki astım kontrolünüzü nasıl değerlendirirsiniz?

(Hiç kontrol altında değil-1, Zayıf düzeyde-2, Bir dereceye kadar-3, İyi düzeyde-4, Tamamen kontrol altında-5)

Sorularna hastaların cevap vermesi istenir (111). Buna göre en yüksek puan 25, en düşük puan 5 olarak hesaplanır.

2. 13. Koku Duyusu İçin Semptom Skoru:

Koku hissi, hiç yok: 0

Koku hissi, aralıklı olarak az miktarda var: 1

Koku hissi, aralıklı olarak tam var: 2

Koku hissi, günün büyük bir bölümünde var, ancak tam değil: 3

Koku hissi, günün büyük bölümünde tam olarak var: 4

Koku hissi, sürekli ve tam ise: 5 olarak, skorlanır (112).

ASA desensitizasyonunun nasıl olup da bir takım klinik parametrelerde düzelmeye neden olduğu, steroid ihtiyacında azalma, nazal polip ve sinüs cerrahi ihtiyacında azalma gibi sonuçlara neden olduğu tam olarak bilinmemektedir. Literatürde ADA patolojisini aydınlatmak amacıyla çok sayıda yayına rastlanmıştır (13, 19, 24, 28). Bu çalışmalardan bir bölümü lökotrienler üzerine odaklanmış iken (29), bir bölümü de prostaglandinler üzerine odaklanmıştır. Ancak astımlılarda inflamasyonda temel rol oynayan Th₁ ve Th₂ sitokinlerde nasıl değişiklik olduğunu gösteren tek çalışma Shome ve ark. (113) tarafından yapılmış olan ve bir hastanın alındığı çalışma olup, bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Çalışmamızda,

desensitizasyon öncesi IL-2, IL-4, IFN- γ salınım yapan CD4+ T lenfosit oranlarına bakılmış olup, desensitizasyon sonrasında bu hücre oranlarındaki değişiklikler gösterilmeye çalışılmıştır.

Çalışmada astımdaki inflamasyonda önemli düzenleyici rolü olan CD4+ T lenfositlerin ASA duyarlı astımlılarda sağlıklı kişi ve ASA tolerant astımlılarla kıyaslandığında IL-2, IL-4 ve IFN- γ sunumunun farklı olup olmadığını, ASA desensitizasyon tedavisi ile CD4+ T lenfositlerden bu sitokinlerin sunumunda bir değişiklik olup olmadığını araştırmayı planladık. Bu yolla ASA duyarlı astımda patogeneze yardımcı olabilecek mekanizmaları ortaya koymayı planladık.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3. 1. Hasta Seçimi ve Takibi

Çalışmamıza 12 ADA'lı hasta (sinüzit ve/veya nazal polip ve ASA ve/veya NSAİ ilaç kullanımı ile solunumsal şikayeti olan) çalışma grubu olarak alınır iken, herhangi bir solunumsal ya da sistemik hastalığı olmayan 15 sağlıklı kişi birinci kontrol grubunu, 12 astımlı hasta ikinci kontrol grubunu oluşturdu.

Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri;

- a. Düzenli sistemik steroid kullanmasına karşın astımı kontrol altına alınamayan ADA'lı olgular,
- b. Sık tekrarlayan paranazal sinus operasyonu geçiren ASA duyarlı astımlı olgular çalışmaya dahil edildi.

Çalışmaya Dahil Edilmeme Kriterleri;

- a. ASA veya diğer NSAİ ile geçirilen şiddetli anaflaktik reaksiyon hikayesi,
- b. ASA kullanımını engelleyecek derecede şiddetli kalp, gastro-intestinal sistem, karaciğer ve böbrek hastalığı hikayesi,
- c. Desensitizasyondan bir ay önce geçirilmiş üst solunum yolu infeksiyonu,
- d. Gebelik,
- e. B-reseptör blökeri kullanıyor olmak,
- g. Psikiyatrik hastalık,
- h. FEV1 değerinin %70'in altında olması,
- ı. Hastanın istekli olmaması.

Çalışmaya alınan normal-kontrol grubunun herhangi bir solunumsal veya sistemik hastalığı olmaması, ADA'lı kontrol grubunun ASA duyarlı gruba benzer şekilde orta veya ağır persistan astımlı hastalardan oluşmasına dikkat edildi.

Çalışma grubuna alınan hastalar desensitizasyondan 15 gün önce ayrıntılı bir anamnez ve fizik muayeneden geçirildi. Anamnez sırasında hastaların sinüzit ve/veya nazal polip ve buna bağlı cerrahi, astım olup olmadıkları, ASA ve/veya NSAİ kullanımı ile solunumsal semptomlarının varlığı kaydedildi. Anamnez sonucuna göre ADA düşünülen 12 hastaya, solunum fonksiyon testleri (SFT) uygulandı. Rinomanometrik ölçümleri, nazal sürüntü örnekleri alındı, astım kontrol testi uygulandı. Solunum fonksiyon testlerine göre FEV1 değeri %70'in üzerinde

olan veya kendi en iyi değerinin %70'i üzerinde olan hastalar çalışmaya dahil edildi. SFT her hastaya üç kez yapılıp değişkenliğin 0,2 lt'nin altında olmasına dikkat edildi. Hastalardan ilk randevu sırasında (desensitizasyondan 15 gün önce) tüm ilaçlar›n› kullanmalar› (uzun etkili inhale bronkodilatör, inhale kortikosteroid, gerekli olduğunda kısa etkili bronkodilatör, teofilin, antilkotrien kullan›yor ise başlanıp, kullan›yor ise 2 tb şeklinde kullanmalar›) istenildi. Desensitizasyondan 48 saat önce hastanın kliniğine göre steroid bağımlı ise 60 mg/gün, değil ise 40 mg/gün şeklinde prednisolon ve proton pompa inhibitörü başlanıldı (114).

Desensitizasyon işlemi sırasında ilk gün 2 kez verilen plasebo ile tansiyon arterial (TA), FEV1, nazal şikayetler (burun akıntısı, burun kaşıntısı, hapşırık, burun tıkanıklığı), larengo-farengeal bulgular (boğazda yanma, ses kısıklığı), baş ağrısı, solunumsal şikayetler (nefes darlığı, hırıltılı solunum, öksürük), cilt bulgular› (rtiker, kaşıntı), GİS bulguları (kusma, karın ağrısı), göz bulguları (kaşıntı, sulanma, şişlik) her dozdan sonra takip edilirken, desensitizasyonun ilk günü, sırasıyla; 25 mg, 50 mg, 75 mg, ve 100 mg ASA verildikten sonra yine ayn› parametreler kontrol edildi. 2. gün; 150 mg ve 300 mg ASA verildikten sonra ayn› parametreler kontrol edildi. Desensitizasyon işleminin son günü 600 mg ASA 2x1 verildikten sonra yine ayn› parametreler incelendi.

Çalışmam›z sırasında cilt, nazal, göz yak›nmalar› olan hastalar›m›za H₁ ve H₂ reseptör blkeri uygulanır iken, mide şikayetleri olan hastalarımıza ek proton pompa inhibitörü, larengeal ve solunumsal yak›nmalar› olanlara ise ek prednizolon ve bronkodilatör uygulandı.

Hastalardan desensitizasyon öncesi birinci gün ve desensitizasyon oluştuktan sonra birinci ayda, periferik kanda IFN- γ , IL-2, IL-4 sal›n›m› yapan CD4+ T lenfositlerin yüzdesi, lenfosit alt gruplar› ve lenfosit apoptozis oran›na bakıldı. Nazal mukozadaki değişiklikleri tayin etmek amac› ile nazal sürüntü örnekleri incelendi, koku semptom skoru, rinomanometrik ölçümleri yapıldı. Ast›m semptomlar›n›n ağrılığındaki değişiklikleri incelemek amacıyla desensitizasyon öncesi ve sonras› AKT uygulandı.

Çalışma için Eskişehir Osmangazi Üniversitesi T›p Fakültesi Dekanlığ›'ndan Etik Kurul onay› alındı (2008-09-25 sayılı karar) ve hastalardan da gönüllü onam formu alındı.

3.2. Tam Kanda T Helper Hücrelerinde İnterasellüler Sitokin Düzeyi Ölçümü

Heparinli enjektöre alınan 1 cc kan, 1cc +2 mM *L-glutamine RPMI* ile karıştırıldı. Üzerine *Phorbol 12-Myristate 13-Acetate* (PMA), *calcium ionophore*, *Brefeldin* eklendi. %5 CO₂'li etüvde 37° de 4-6 saat inkübe edildi. 3 tüpe 100 µl kan konuldu. Her tüpe 2 ml dilüe *Pharmlyse* (B.D) ilave edilerek vortexlendi. 10 dakika karanlıkta bekletildikten sonra 5 dakika 500 g'de santrifüj edildi. Süpernatant atıldıktan sonra, 2 ml staining buffer (BD) konularak yıkandı. Birinci tüpe CD4 *Fluorescein isothiocyanate* (FITC)/CD3 PerCp (Becton Dickinson), ikinci tüpe CD4FITC/CD3 PerCp (Becton Dickinson), üçüncü tüpe CD4PE/CD3PerCp (Becton Dickinson) yerleştirildi. Antikorları konularak 15 dakika karanlıkta inkübe edildi. Bir kez staining buffer ile yıkandı, süpernatant atıldı, pellete 500 µl *Cytofix/Cytoperm* konulup vortexlendi. Oda sıcaklığında, karanlıkta 20 dk inkübe edildi. 1800 RPM'de 5 dakika santrifüj edilip, süpernatant atıldı. 2ml *Perm Wash* solusyonu konulup, vortexlenip oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. 5 dakika 1800 RPM'de santrifüj edildi. Süpernatant atıldı birinci tüpe IL-2 PE (Pharmingen), ikinci tüpe IL-4 PE (Pharmingen), üçüncü tüpe IFN-γ FITC (Pharmingen) antikorlarıyla 30 dk karanlıkta inkübe edildi. 2 ml permwash ile bir kez yıkandı, Flow cytometre cihazında cellquest programında değerlendirildi (115). Sonuçlar CD4 lenfositlerden sitokin salınım yüzde olarak verildi.

3. 3. Lenfosit Apoptoz Tayini

Hastalardan heparinli enjektörle alınan 2 cc kan örneği 1/1 PBS veya kültür mediumu ile dilüe edildikten sonra, 1077 *histopaque* ile dansite gradient yöntemi ile 700qx30'da santrifüj edildi. Lenfositler ayrı bir tüpe alınarak PBS veya kültür mediumu ile yıkandı. Hücreler soğuk *dilüe binding buffer* ile ml'de 10⁵-10⁶ hücre olacak şekilde süspanse edildi. *Annexin X-FITC* soğuk *dilüe binding buffer* ile 10 kat dilüe edildi. 490 µl hücre süspansiyonu üzerine 5 µl *Annexin-V FITC* ve 5 µl *propidium iodide* eklendi. 10 dak karanlıkta buz üzerinde inkübe edildi. Flow cytometrede örnekler değerlendirildi (116).

3. 4. Lenfosit Alt Grupları

K3-EDTA'lı tüpe alınan kan örneği dört ayrı tüpe bölündü. Tüpler; CD3 FITC/CD19PE (B.D), CD3 FITC/CD4 PE (B.D), CD3 FITC/CD8 PE(B.D), CD3

FITC/CD16+56 PE (B.D) şeklinde işaretlendi. Her tüpe bu monoklonal antikorlardan 20 µl konulduktan sonra üzerlerine 100 µl kan konuldu. 20 dakika karanlıkta oda sıcaklığında bekletildi. Her tüpe 2 ml dilüe eritrosit lize solusyonu konulup, karanlıkta oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. Santrifüj edilip süpernatant atıldıktan sonra, 2 kez 2 ml PBS (*Phosphat buffer saline*) ile yıkandı. Her tüp 0.5 ml PBS ile resüspanse edilip, Flow cytometrede değerlendirildi.

3. 5. Nazal Sürüntü

Nazal sürüntü örneği boğaz kültür çubuğu ile alt konkanın mukozal yüzeyinden alındı. Lamlar havada kurutulduktan sonra *Wright* yöntemi ile boyandı ve ışık mikroskobu ile değerlendirildi. Solunum mukoza epitelini dışında kalan hücreler sayılarak eozinofil yüzdesi belirlendi.

3. 6. Rinomanometri

Aktif anterior rinomanometri ölçüm eğrilerinden elde edilen 75 Pa ve 150 Pa referans basınçtaki “R” değeri Koko-Rhino ile (Louisville, US) ölçüldü. Ölçüm sonrasında ortalama basınç farkı (P) ve nazal kaviteden geçen akım miktarı (V) “ $R = P/V$ ” formülü kullanılarak ND (R) herbir kavite için ayrı ayrı “ $\text{Pa}/\text{cm}^3/\text{sn}$ ” değeri şeklinde bilgisayar mikroişlemcisi ile otomatik olarak hesaplanmış oldu. Total ND (nazal direnç) ise paralel dirençlerde Ohm kanuna göre, yani “ $R_{\text{total}} = (R_{\text{sağ}} \times R_{\text{sol}})/(R_{\text{sağ}} + R_{\text{sol}})$ ” formülü ile saptandı (117).

3. 7. İstatiksel İşlemler

Olgu verilerinin kaydı için standart formlar oluşturuldu, veriler bilgisayara kaydedildi. İstatiksel işlemler SPSS-win 11.0 programı kullanılarak yapıldı. Değerler ortalama±standart sapma olarak verildi. Üç grubun değerlerinin karşılaştırılmasında One-Way Anova testi ve Bonferroni düzeltme testi kullanıldı. Desensitizasyon öncesi ve sonrası değerlerin karşılaştırılmasında Wilcoxon t-testi kullanıldı. $P < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

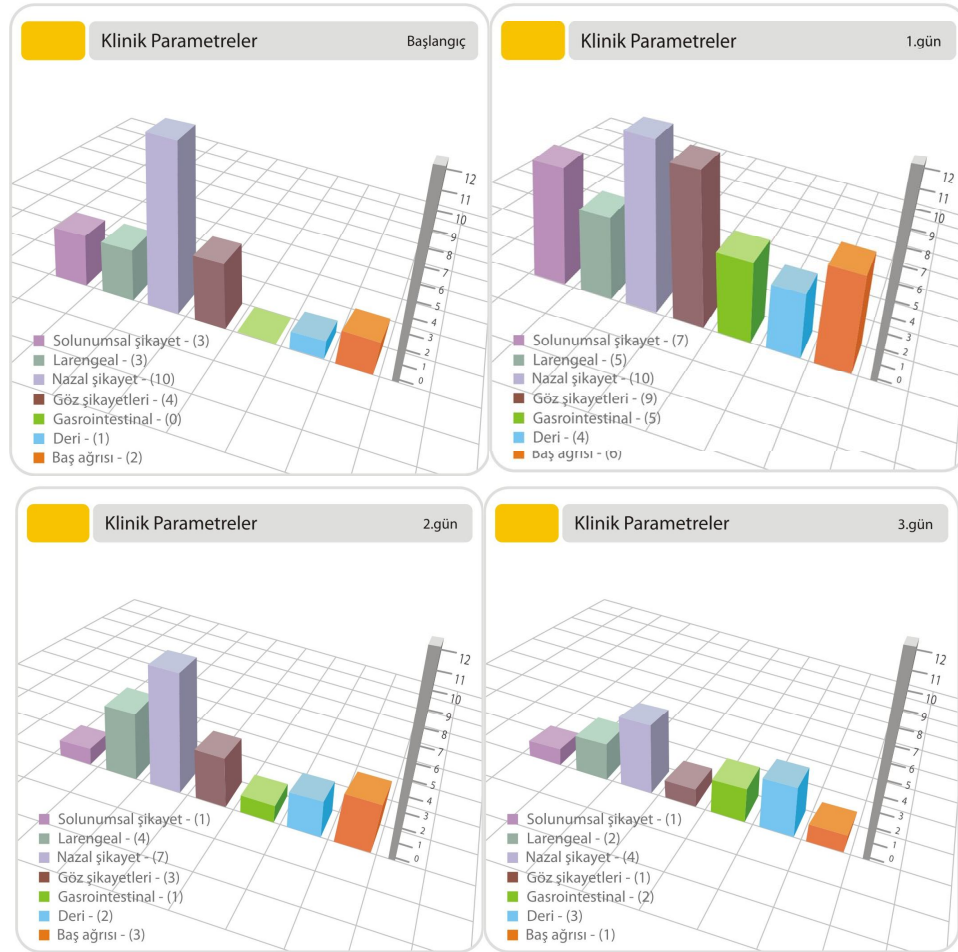
Çalışmamıza 3 grup alındı. Grup 1'de ADA'lı hastalar (n=12), grup 2'de herhangi bir solunumsal ya da sistemik hastalığı olmayan normal-kontrol grubu (n=15), 3. grupta ise ASA'e toleran astımlı kontrol grubu (n=12) yer aldı. Grup 1'deki hastaların 7'sini kadın hastalar oluştururken, 5'i erkeklerden oluşmaktaydı. Grup 2'deki kontrol grubunun 9'unu kadınlar oluştururken, 6'sını erkekler oluşturmaktaydı. Grup 3'de ise astımlı kontrol grubunun 9'u kadınlardan oluşurken, 3'ü erkeklerden oluşuyordu (Tablo-1).

Çalışma gruplarının cins dağılımları arasında fark bulunamadı (Kolmogorov-Smirnov Z= 0.437; S=0.991).

Tablo 4. 1. Hasta ve kontrol gruplarının klinik ve demografik özellikleri

	ADA (n=12)	Normal-kontrol (n=15)	Astımlı-kontrol (n=12)
Yaş (y)	48.67±10.2	50.87±7.33	49.83±9.49
Cins (E/K)	5/7	6/9	3/9

Birinci grupta çalışmaya dahil edilen hastaların ikisi sistemik steroid kullanıyor iken, hastaların önceden nazal polipektomi olma sayısı 2.67±1.87, ortalama ASA duyarlılık süresi ise 7.83±5.5 idi.



Şekil 4. 1. Desensitizasyon öncesi, 1. gün, 2. gün, 3. gün şikayetlerin dağılımı

Çalışmamız sırasında başlangıçta en fazla yakınma nedenini nazal şikayetler oluşturuyordu. İkinci sıklıktaki göz yakınmalar›, üçüncü sıklıkta solunumsal ve larengeal bulgular yer alıyordu. Baş ağrısı 4. sıklıkta, deride kaşıntı şikayeti 5. sıklıkta yer alıyordu. Hiçbir olguda başlangıçta GİS yakınması bulunmuyordu. Desensitizasyondan sonra ilk günün sonundaki ilk bulguyu nazal şikayetler oluşturur iken, ikinci sıklıkta göz yakınmalar›, solunum sistemi şikayetleri üçüncü sıklıktaki yakınmayı oluşturuyordu. Baş ağrısı 6 hastada gözlenir iken 4. sıklıktaki yakınmayı oluşturur iken, larengeal ve GİS bulguları 5. sıklıkta gözleniyordu. Deri bulgular› 6. sıklıkta gözleniyordu. 2. gün en sık rastlanan bulgu yine nazal şikayetler iken, larengeal bulgular ikinci sıklıkta gözleniyor, göz şikayetleri ve baş ağrısı 3. sıklıkta, deri bulguları 4. sıklıkta yakınma iken, GİS ve solunumsal şikayetler 5. sırada yer alıyordu. Son gün 1200 mg doza ulaşıldığında ise en az şikayetin olduğu gün olup,

yine nazal şikayetler ilk sırada olup, deri bulgular› 2. sırada, larengeal ve GİS bulgular› 3. sırl›kta, solunumsal şikayet ve göz bulguları ve baş ağrısı son sırada yer al›yordu.

Tablo 4.2.Desensitizasyon sırasında FEV1 düşme oranlarına göre hastaların dağılımı

	1. gün	2. gün	3. gün
FEV1 (L/dk)	3.16±1.11	3.52±0.93	3.68±0.86
FEV1’de %15-19 düşme	1	-	-
FEV1’de %20-29 düşme	1	1	-
FEV1’de %30 ve üzeri düşme	3	-	-

Çalışmamız sırasında FEV1 değeri 1. gün sonunda 3.16.±1.11, 2. gün sonunda 3.52±0.93, 3. gün sonunda ise 3.68±0.86 idi. Çalışmamız sırasında FEV1’de %15-19 düşme olan hasta sayısı 1 iken, %20-29 düşme birinci gün bir hastada gözlenir iken, 2. günde de 1 hastada gözlenmiş, %30 ve üzeri düşme oranı ise 1. gün 3 hastada gözlenmişti.

Tablo 4.3.ADA'lı hastalarda desensitizasyon öncesi ve sonrası nazal ve solunumsal takip parametreleri.

Parametreler	ADA desensitizasyon öncesi	ADA desensitizasyon sonrası	P
FEV1 (L/dk)	3.74±1.06	3.82±0.8	0.50
AKT	15.17±4.82	21.83±2.48	0.001
Koku skoru	0	1.67±0.94	-
Rinomanometri sonuçları			
Akım 75 (ml/sn)	565.08±214.11	694.75±162.11	0.025
Akım 150 (ml/sn)	670.67±369.47	934.83±281.68	0.005
Direnç 75 (Pa/cm ³ /sn)	0.16±0.09	0.12±0.09	0.023
Direnç 150 (Pa/cm ³ /sn)	0.24±0.20	0.21±0.19	0.32
Nazal sürüntü örnekleri			
Burun sürüntüsü nötrofil (%)	55.8±35.1	73.7±30.4	0.021
Burun sürüntüsü eozinofil (%)	44.2±35.1	26.3±30.4	0.021
Kan parametreleri			
Lenfosit sayısı (mm ⁻³)	2333.3±795.8	2016.7±767.3	0.12
Eozinofil sayısı (mm ⁻³)	275.0±337.0	287.5±309.1	0.88
IgE (U/dl)	485.8±832.9	455.3±764.3	0.26

Çalışma öncesi yapılan Astım Kontrol Testi (AKT) ne göre elde edilen skor 15.17±4.82 iken, desensitizasyon sonrası elde edilen skor 21.83±2.48 idi (p=0.001). Desensitizasyon öncesi hiçbir hastamızda koku duyusu yok iken, desensitizasyon sonrası koku skoru 1.67±0.94 idi. Desensitizasyon öncesi 75 Pa basınç değerinde ölçülen akım değerinin ortalaması 565.08±214.11 (ml/sn) iken, desensitizasyon sonrası 694.75±162.11 (ml/sn) (p=0.025) idi. Desensitizasyon öncesi 150 Pa basınç değerinde ölçülen akım değerinin ortalaması 670.67±369.47 (ml/sn) iken,

desensitizasyon sonras› 934.83±281.68 (ml/sn) (p=0.005) idi. Desensitizasyon öncesi 75 Pa değerinde ölçülen direnç ortalamasının değeri 0.16±0.09 (Pa/cm³/sn) iken, desensitizasyon sonras› 0.12±0.09 (p=0.023) idi. Desensitizasyon öncesi 150 Pa bas›nç değerinde ölçülen direnç ortalamasının değeri 0.24±0.20 (Pa/cm³/sn) iken, desensitizasyon sonras› 0.21±0.19 (Pa/cm³/sn) idi (p=0.317). Desensitizasyon öncesi burun sürüntüsündeki nötrofil oran› %55.78±35.09 iken, desensitizasyon sonras› %73.66±30.38 (p=0.021), desensitizasyon öncesi burun sürüntüsündeki eozinofil oran› %44.22±35.09 iken, desensitizasyon sonras› %26.33±30.36 (p=0.021) bulunmuştı. Desensitizasyon öncesi kanda lenfosit say›s› 2333.3±795.8/mm³ iken, desensitizasyon sonras› 2016.7±767.3/mm³ idi (p=0.12). Desensitizasyon öncesi eozinofil say›s› 275±337.00/mm³ iken, desensitizasyon sonras› 287.5±309.08/mm³ (p=0.882) idi. Desensitizasyon öncesi Ig E düzeyi 485.75±832.92 (U/dL) iken, desensitizasyon sonras› 455.25±764.32 (U/dL) idi (p=0.261).

Tablo 4.4.ADA'lı hastalarda desensitizasyon öncesi CD4+ T lenfositlerden sunulan sitokin düzeyleri, lenfosit alt grupları ve lenfosit apoptozisinin kontrol grupları ile karşılaştırılması.

	ADA Desensitizasyon öncesi	Normal- kontrol	Astımlı kontrol	Gruplar arası P
CD4+IFN- γ + (%)	15.61 \pm 4.40*	20.51 \pm 4.41	16.07 \pm 5.7	0.021
CD4+IL-2+ (%)	41.50 \pm 8.12	43.42 \pm 9.19	35.25 \pm 11.72	0.098
CD4+IL-4+ (%)	3.91 \pm 1.21	4.75 \pm 1.78	3.82 \pm 1.42	0.220
CD3+CD4+(%)	47.16 \pm 10.30	45.22 \pm 8.03	45.82 \pm 7.06	0.839
CD3+CD8+(%)	28.30 \pm 8.57	28.77 \pm 8.08	29.18 \pm 8.37	0.967
CD4/CD8 oranı	1.80 \pm 0.74	1.71 \pm 0.87	1.68 \pm 0.67	0.919
CD19+CD3-(%)	11.36 \pm 4.33	14.00 \pm 5.39	9.76 \pm 3.72	0.066
Natural Killer(%)	13.16 \pm 9.27	12.00 \pm 5.85	15.24 \pm 6.51	0.517
Lenfosit Apoptozu (%)	17.67 \pm 11.89	18.30 \pm 9.24	15.41 \pm 8.28	0.739

*=ADA'lı hastalarda desensitizasyon öncesi IFN- γ sunan CD4+ T lenfosit oranı normal-kontrolden düşüktür (p=0.040).

Desensitizasyon öncesi IFN- γ salgılayan lenfosit oranı %15.61 \pm 4.40 iken, normal-kontrol grubunda %20.51 \pm 4.41 bulunmuş, astımlı grupta %16.07 \pm 5.7 idi. Gruplar arasında önemli fark mevcuttu (P=0.021). ADA'lı hastalarda desensitizasyon öncesi IFN- γ sunan CD4+ T lenfosit oranı normal-kontrolden düşük bulunmuştu (p=0.040). Desensitizasyon öncesi IL-2 salgılayan lenfosit oranı %41.50 \pm 8.12 iken, normal-kontrol grubunda %43.42 \pm 9.19 bulunmuş, astımlı grupta %35.25 \pm 11.72 (P=0.098). Desensitizasyon öncesi IL-4 salgılayan lenfosit oranı %3.91 \pm 1.21 iken, normal-kontrol grubunda %4.75 \pm 1.78 bulunmuş, astımlı grupta %3.82 \pm 1.42 (P=0.220). Desensitizasyon öncesi CD4+ lenfosit oranı %47.16 \pm 10.30 iken, normal-kontrol grubunda %45.22 \pm 8.03 bulunmuş, astımlı grupta %45.82 \pm 7.06 (P=0.839). Desensitizasyon öncesi CD8+ lenfosit oranı %28.30 \pm 8.57 iken, normal-kontrol grubunda %28.77 \pm 8.08 bulunmuş, astımlı grupta

%29.18±8.37 (P=0.967). Desensitizasyon öncesi CD4/CD8 oranı %1.80±0.74 iken, normal-kontrol grubunda %1.71±0.87 bulunmuş, astımlı grupta %1.68±0.67 (P=0.919). Desensitizasyon öncesi CD19+ lenfosit oranı %11.36±4.33 iken, normal-kontrol grubunda %14.00±5.39 bulunmuş, astımlı grupta %9.76±3.72 (P=0.066). Desensitizasyon öncesi natural killer lenfosit oranı %13.16±9.27 iken, normal-kontrol grubunda %12.00±5.85 bulunmuş, astımlı grupta %15.24±6.51 (P=0.517). Desensitizasyon öncesi lenfosit apoptozis oranı %17.67±11.89 iken, normal-kontrol grubunda %18.30±9.24 bulunmuş, astımlı grupta %15.41±8.28 (P=0.739).

Tablo 4.5.ADA'lı hastalarda desensitizasyon öncesi ve sonrası CD4+ T lenfositlerden sunulan sitokin düzeyleri, lenfosit alt grupları ve lenfosit apoptozisinin karşılaştırılması.

	ADA		P
	Desensitizasyon öncesi	Desensitizasyon sonrası	
CD4+IFN- γ + (%)	15.61±4.40	15.08±5.89	0.676
CD4+IL-2 (%)	41.50±8.12	39.41±8.83	0.539
CD4+IL-4 (%)	3.91±1.21	4.81±1.63	0.130
CD3+CD4+(%)	47.16±10.30	46.93±9.96	0.875
CD3+CD8+(%)	28.30±8.57	28.34±8.08	0.937
CD4/CD8 oranı	1.80±0.74	1.74±0.66	0.724
CD19+CD3-(%)	11.36±4.33	9.56±4.04	0.158
Natural Killer(%)	13.16±9.27	15.18±9.89	0.433
Lenfosit Apoptozu (%)	17.67±11.89	13.64±6.72	0.355

Desensitizasyon öncesi IFN- γ salgılayan lenfosit oranı %15.61±4.40 iken, desensitizasyon sonrası %15.08±5.89 bulunmuştu (P=0.676). Desensitizasyon öncesi IL-2 salgılayan lenfosit oranı %41.50±8.12 iken, desensitizasyon sonrası

%39.41±8.83 bulunmuştu (P=0.539). Desensitizasyon öncesi IL-4 salınım yapan lenfosit oranı %3.91±1.21 iken, desensitizasyon sonrası %4.81±1.63 bulunmuştu (P=0.130). Desensitizasyon öncesi CD4+ T lenfosit oranı %47.16±10.30 iken, desensitizasyon sonrası %46.93±9.96 bulunmuştu (p=0.875). Desensitizasyon öncesi CD8+ T lenfosit oranı %28.30±8.57 iken, desensitizasyon sonrası %28.34±8.08 bulunmuştu (p=0.937). Desensitizasyon öncesi CD4/CD8 oranı 1.80±0.74 iken, desensitizasyon sonrası 1.74±0.66 bulunmuştu (P=0.724). Desensitizasyon öncesi CD19+ T lenfosit oranı %11.36±4.33 iken, desensitizasyon sonrası %9.56±4.04 bulunmuştu (p=0.158). Desensitizasyon öncesi natural killer T lenfosit oranı %13.16±9.27 iken, desensitizasyon sonrası %15.18±9.89 bulunmuştu (p=0.433). Desensitizasyon öncesi lenfosit apoptozis oranı %17.67±11.89 iken, desensitizasyon sonrası 13.64±6.72 bulunmuştu (P=0.355).

Tablo 4.6.ADA'lı hastalarda desensitizasyon sonrası CD4+ T lenfositlerden sunulan sitokin düzeyleri, lenfosit alt grupları ve lenfosit apoptozisinin kontrol grupları ile karşılaştırılması.

	ADA Desensitizasyon sonrası	Normal- kontrol	Astım kontrol	Gruplar arası P
CD4+IFN- γ (%)	15.08±5.89*	20.51±4.41	16.07±5.7	0.025
CD4+IL-2+ (%)	39.41±8.83	43.42±9.19	35.25±11.72	0.118
CD4+IL-4+ (%)	4.81±1.63	4.75±1.78	3.82±1.42	0.255
CD3+CD4+(%)	46.93±9.96	45.22±8.03	45.82±7.06	0.871
CD3+CD8+(%)	28.34±8.08	28.77±8.08	29.18±8.37	0.968
CD4/CD8 oranı	1.74±0.66	1.71±0.87	1.68±0.67	0.977
CD19+CD3-(%)	9.56±4.04**	14.00±5.39	9.76±3.72	0.022
Natural Killer(%)	15.18±9.89	12.00±5.85	15.24±6.51	0.437
Lenfosit Apoptozu (%)	13.64±6.72	18.30±9.24	15.41±8.28	0.342

*ADA'lı grupta desensitizasyon sonrası IFN- γ oranı normal-kontrolden düşük olarak saptanmıştır (p=0.036).** ADA'lı grupta desensitizasyon sonrası CD19 değeri, normal-kontrolden düşük olarak saptanmıştır (p=0.047).

Desensitizasyon sonrası IFN- γ salınım yapan lenfosit oranı %15.08 \pm 5.89 iken, normal-kontrol grubunda %20.51 \pm 4.41 bulunmuş, astımlı grupta %16.07 \pm 5.7 idi. Üç grup arasında anlamlı farklılık vardı (P=0.025). ADA'lı grupta desensitizasyon sonrası IFN- γ oranı normal-kontrolden düşük olarak saptanmıştır (p=0.036). Desensitizasyon sonrası IL-2 salınım yapan CD4+ T lenfosit oranı %39.41 \pm 8.83 iken, normal-kontrol grubunda %43.42 \pm 9.19 bulunmuş, astımlı grupta %35.25 \pm 11.72 (P=0.118). Desensitizasyon sonrası IL-4 salınım yapan CD4+ T lenfosit oranı %4.81 \pm 1.63 iken, normal-kontrol grubunda %4.75 \pm 1.78 bulunmuş, astımlı grupta %3.82 \pm 1.42 (P=0.255). Desensitizasyon sonrası CD4+ T lenfosit oranı ADA'lı grupta %46.93 \pm 9.96 iken, normal-kontrol grubunda 45.22 \pm 8.03, astımlı grupta %45.82 \pm 7.06 bulunmuştu (p=0.871). Desensitizasyon sonrası CD8+ T lenfosit oranı ADA'lı grupta %28.34 \pm 8.08 iken, normal-kontrol grubunda 28.77 \pm 8.08, astımlı grupta %29.18 \pm 8.37 bulunmuştu (p=0.968). Desensitizasyon sonrası CD4/CD8 oranı %1.74 \pm 0.66 iken, normal-kontrol grubunda %1.71 \pm 0.87 bulunmuş, astımlı grupta %1.68 \pm 0.67 (P=0.977). Desensitizasyon sonrası CD19+ lenfosit oranı %9.56 \pm 4.04 iken, normal-kontrol grubunda %14.00 \pm 5.39 bulunmuş, astımlı grupta %9.76 \pm 3.72 idi. Gruplar arasında istatistiksel fark mevcuttu (P=0.022). ADA'lı grupta desensitizasyon sonrası CD19 değeri, normal-kontrolden düşük olarak saptanmıştır (p=0.047). Desensitizasyon sonrası lenfosit apoptozis oranı %13.64 \pm 6.72 iken, normal-kontrol grubunda %18.30 \pm 9.24 bulunmuş, astımlı grupta %15.41 \pm 8.28 (P=0.342). Desensitizasyon sonrası doğal killer lenfosit oranı %15.18 \pm 9.89 iken, normal-kontrol grubunda %12.00 \pm 5.85 bulunmuş, astımlı grupta %15.24 \pm 6.51 idi (P=0.437). Desensitizasyon sonrası lenfosit apoptozis oranı %13.64 \pm 6.72 iken, normal-kontrol grubunda %18.30 \pm 9.24 bulunmuş, astımlı grupta %15.41 \pm 8.28 idi (P=0.342).

5. TARTIŞMA

ADA nazal polip, kronik rinosinüzit, kronik hava yolu inflamasyonunun içinde bulunduğu, persistan astım ve rinit bulguları ile giden, ASA ve diğer non-steroidal antiinflamatuvar ilaç almından sonra astım ve rinit atakları ile seyreden klinik bir sendromdur.

Hastalığın tedavisinde standart astım tedavisine ek olarak uygulanacak ASA desensitizasyon tedavisi gelecekteki ASA ve NSAİİ reaksiyonlarından hastayı koruduğu gibi, sistemik ve inhale kortikosteroid ihtiyacında da azalmaya neden olur. Ayrıca, daha az kortikosteroid kullanımı ve buna bağlı daha az yan etki gelişmesini sağladığı gibi, daha az üst solunum yolu infeksiyonu geçirmeye ve astım atakları nedeniyle hastaneye yatışı azaltma ve ek olarak nazal polip, sinüs cerrahi ihtiyacında da azalmaya neden olmaktadır (54).

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda ADA'lı hastalarda ASA provokasyonu ve desensitizasyonu öncesi kontrol edici tedavinin devam edilmesi önerilmektedir (118). ASA desensitizasyonu ve provokasyon için standart protokollar yayınlanmış olup, bu protokollarda genel olarak 30 mg ASA ile başlanması ve bu şekilde 30 mg ASA uygulandıktan sonra hastaların büyük bir bölümünde solunumsal şikayetlerin olmaması amaçlanmıştır. Ancak yayınlanmış çalışmalarda başlangıç provokasyon dozu ile bireysel klinik karakteristiklerin nasıl bir korelasyon gösterdiği belirlenmemiştir (119, 120). Solunumsal şikayetleri azaltan ve koruyucu olarak önerilen en düşük tedavi dozu 650 mg'dır. Başlangıçta ilk 6 ay için önerilen doz 650 mg 2x1/gün (hasta tolere edebilir ise) iken, daha sonra ASA'nın 325 mg günde 2 kez alınması şeklindedir (119, 120). Bu şemalarda desensitizasyon sırasında doz artım süresinin 3 saat şeklinde uygulanması önerilmiştir. Biz de çalışmamıza aldığımız hastaların tümüne kontrol edici tedaviye devam ederek, 25 mg ASA dozu ile başlayıp 4. günün sonunda 600 mg 2x1 dozuna ulaştık.

Çalışmamızda desensitizasyon sırasında FEV1'de %15-19 oranında düşme olan hasta sayısı 1 (%8.3) iken, %20-29 oranında düşme olan hasta sayısı 2 (%17.6), %30 ve üzeri oranında düşme olan hasta sayısı 3 (%24.9) idi. Williams ve ark. (121) yaptıkları çalışmada, FEV1'de %15-19 arasında düşme olan hasta oranını %13, %20-29 arasında düşme olan hasta oranını %13, %30 ve üzeri düşme olan hasta oranını %9 bildirmişlerdir. Hope ve ark. (120) FEV1'de %9 hastada %30'dan daha fazla

düşme, %20 olguda %21-30 düşme, %28 olguda ise %10-20 oranında düşme olduğunu bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda olguların tümünde nazo-okuler yakınmalar ortaya çıkmıştır. Hope ve ark. (120) %43 olguda nazo-okuler yakınmalar olduğunu bildirmişlerdir. Williams ve ark. (121) yaptığı çalışmada oral provokasyon sırasında %90 olguda nazo-okuler semptom varlığını tanımlamışlardı. GİS yakınması bizim çalışmamızda 7 (%58.1) olguda rastlanır iken, larengeal bulgular 6 (%49.8) hastada, cilt bulguları 7 (%58.1) olguda saptanmıştı. Williams ve ark. (121) GİS yakınmaların %23 olguda, cilt bulguların %10, larengeal bulguların %8, negatif oral provokasyonu olan hasta oranın ise %8 olarak bildirmişlerdi. Bizim çalışmamızda desensitizasyonun başlangıcından itibaren semptomatik olmayan hastamız yoktu.

Nazal akım ve direnç ölçümünde kullanılan anterior rinomanometrinin kolay ve hızlı yapılabilmesi, çocuklarda kullanılabilmesi gibi avantajların yanı sıra, yüz maskesi kullanımda görülmeyen, ancak burun aparatı kullanımı sonrasında görülen burun deliği deformasyonu yapma gibi dezavantajları da bulunmaktadır (122). Her kullanımdan önce kalibre edilme gereği de başka bir dezavantajını oluşturur. Yapılan araştırmalarda rinomanometrik ölçümlerde en değerli verinin total nazal hava yolu direnci olduğu ortaya konmuştur. Normal değeri 0.12-0.33 Pa/cm³/sn arasında kabul edilmektedir (110). Nazal rezistansın infantlardaki en yüksek değeri 1.2 Pa/cm³/sn olup, 16-18 yaş civarında yetişkin düzeyine iner, yaş artışıyla yavaşça düşme eğilimi gerçekleşir (123, 124). Biz de çalışmamızda anterior rinomanometri tekniği ile ASA desensitizasyonu öncesi ve sonrası (birinci aylık kontrolde) total nazal hava yolu direnç ve akım sonuçlarını değerlendirdik. Hastaların semptomları ve koku his düzeyinin belirlendiği koku skor düzeyleri kıyaslandığında ASA desensitizasyonu sonrası koku skor düzeyi yükselir iken, aynı şekilde desensitizasyon sonrası 75 Pa ve 150 Pa basınç düzeyinde akımda istatistiksel anlamlı düzeyde artış olur iken, direncin 75 Pa olduğunda istatistiksel anlamlı düzeyde azalmış olduğu gözlenmiştir. 150 Pa basınç düzeyindeki rezistansta azalma saptanmış, ancak bu düşme istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bizim çalışmamızda desensitizasyon sırasında ölçüm yapılmamış olup, desensitizasyon oluştuktan 30 gün sonra ölçüm yapılması nedeniyle akım ve volümde artış ve dirençte düşme saptanmıştı. Rinomanometrinin klinik olarak yararını göstermek için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Mc Caffrey ve ark. (125) yaptıkları çalışmada total nazal hava yolu direncinin değeri ile hastanın

iyileşmesine ait duyguları arasında anlamlı bir sonuç olduğunu göstermişlerdir. Gertner ve ark. (126) rinomanometrik ölçümlerle nazal hava yolu tıkalı olan hastalarla, normal hava yolu olan hastaların kolaylıkla ayırt edilebileceğini belirtmişlerdir. Buna karşın rinomanometrinin hastanın semptom veya doktorun bulguları ile korelasyon göstermediğini de belirten çalışmalar da bulunmaktadır (127). Yapılan bir başka çalışmada nazal hava yolu direncinin rinomanometrik ölçümü ile hastanın hissettiği nazal hava akımı arasında ilişki tespit edilmemiştir (128). Diğer bir çalışmada ameliyattan sonra nazal hava yolu direnci ile hastanın subjektif olarak iyi hissetmesi arasında yüksek oranda ilişki bulunmuştur (129). Birçok fizyolojik faktöre cevap olarak nazal rezistans değişebilir (130). ASA'ye bağlı olarak da nazal hava akımı azalabilir. Jones ve ark. (131, 132) nın yaptığı bir çalışmada daha önce ASA'ye bağlı hiçbir şikayet tanımlamayan 25 sağlıklı gönüllü alınmış. Deneklerin bir bölümüne 900 mg soluble ASA verilirken, diğer bölümüne 1000 mg vitamin C verilmiş. Çift kör plasebo kontrollü yapılan çalışmada ASA çoğu hastada nazal rezistansı artırır iken, vitamin C'nin rezistansa etkisi gözlenmemiştir. Bu durum ASA'in siklooksijenaz enzimi üzerine etkisi ile PGF₂-alfanın azalmasıyla açıklanabilir. PGE₂ ve D₂ domuz nazal arterleri içine enjekte edildiğinde nazal rezistans azalmaya neden olmuş ve PGE₁, E₂, F₁-alfa da insanlarda topikal uygulandığında benzer etkiye sebep olmuştu (133, 134).

Nazal sürüntüde eozinofiller ilk kez 1927 yılında araştırılmıştır. Nazal sitolojik bulguların analizi, özellikle allerjik rinitlerin ayrıştırılmasında önemli yer tutar (135, 136). Bizim çalışmamızda desensitizasyon öncesi %55.78±35.09 olan nötrofil oranı desensitizasyon sonrası artmış ve %73.66±30.38'e ulaşmış, eozinofili oranı ise % 44.22±35.09'dan % 26.33±30.36'ya gerilemişti. Alınan burun sürüntü örneklerinde de nötrofil sayısı artar iken, eozinofil sayısı azalmıştı. Daha önce yapılan çalışmalarda burun sürüntü örneklerinin doku ile korele olması bize eozinofillerin dokuda da azaldığını bunun desensitizasyon sürecinde eozinofillerin sayısının dokuda düştüğünün indirekt göstergesi olabilir. Jankowski ve ark. (137) yaptığı çalışmada nazal polipozis nedeniyle cerrahiye giden hastalarda burun sekresyonu ve doku eozinofilisi arasında korelasyon bulunmuş (r=0.58, p=0.001), nazal dokusu hipereozinofilik olan hastaların sekresyonlarında daha az sayıda lökosit saptanmıştı. Bu çalışmada eozinofildeki artışın nötrofildeki azalma ile dengelenmiş

olduğu görülmüştü. Modrzyński ve ark. (138)'nın yaptığı çalışmada ise non-atopik 114 perennial rinitli hastanın alındığı çalışmada lökositlerin %10'dan fazlasının eozinofil olduğu saptanmış, Lizin-ASA ile desensitizasyon sonrası bu hastalarda nazal eozinofil sayısında istatistiksel anlamlı düzeyde düşme olduğu gözlenmişti.

ASA hipersensitivitesi olan hastalarda nazal polip rekürrens oranının nedeni bu kadar yüksek olduğu ve altta yatan ağır rinosinüzitin nedeni henüz açıklanamamıştır. Çalışmamızda ASA desensitizasyonu öncesi apoptotik T hücrelerin sayısı normal-kontrol grubu ve astımlı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında farklı olmadığı, desensitizasyon sonrası ise yine bu oran değişmediği saptanmıştır. ADA'lı hastalardaki polip dokusu ile ASA duyarlı olmayan hastalardaki polip dokusu karşılaştırıldığında apoptotik hücrelerin sayısının ADA'lı hastalarda istatistiksel anlamlı düzeyde düşük olduğu görülmüştür (139). Nazal polipdeki inflamasyonun gelişiminde eozinofillere ek olarak, mononükleer hücrelerinde etkili olduğu gösterilmiştir (139). ASA duyarlı hastalarda nazal polip patogenezinde T lenfositlerin ve T-hücrelerinden kaynaklanan sitokinlerin rolü ve spesifik immünolojik mekanizmasının rolü birkaç çalışmada gösterilmiştir (140, 141). Nazal polipozisin patogenezinde nazal mukozadaki eozinofillerin sayısında artış ve apoptozisin azalması yer alabilir (142, 143). Buna ek olarak bir takım sitokinler, nonpeptid mediyatörler, 15-HETE veya PGE₂, inflamasyonda rol alan sellüler apoptozisin inhibisyonunda rol oynayabilir (144, 145). ASA duyarlı hastaların polip dokusundan elde edilen epitelyal hücrelerin kültüre edilmesi sonucunda apoptozisin kontrolünde dominant rolü olan nazal PGE₂'nin anlamlı olarak düşük olduğu bulunmuştu. Ayrıca ASA duyarlı poliplerde PGE₂ üretiminden sorumlu olan COX-2 salınımının da ASA duyarlı poliplerde düşük olduğu görülmüştü (144, 145). Kowalski ve ark. (144) ADA'lı grup ile ASA kullanabilen hastalardaki polip dokusu karşılaştırıldığında eozinofil ve mast hücre sayısının ADA'lı grupta istatistiksel anlamlı düzeyde artmış, rinosinüzitin süresi ile apoptotik hücre sayısının ters ilişkili olduğu görülmüştü. Bizim çalışmamızda lenfosit apoptozuna periferik kanda bakılmış olup desensitizasyon tedavisinin apoptozise etkisi gösterilememiştir. Bizim çalışmamızın zayıf yönü inflamatuvar alanda apoptozis çalışmasının yapılamamasıdır.

ADA'lı hastalarda kronik desensitizasyon periyodu 2 hafta veya daha fazla desensitizasyon süresi olarak tanımlanır (28). ASA ve diğer NSAİİ ilaçlara karşı gelişen tolerans ve akut desensitizasyonun mekanizması yapılan birçok çalışma ile açıklanmaya çalışılmıştır. Ancak, mekanizma halen tam olarak aydınlatılamamıştır (146-148). NSAİİ'nin araziidonik asid yolunda prostaglandinler ve sisteinil lökotrienler (s-LT) üzerine etkisi, bir çok çalışmada gösterilmiştir (144, 149, 150). s-LT ADA'daki inflamasyonda hava yolu remodellingi ve bronkokonstrüksiyonda önemli bir rol oynar. ASA'nın LTC₄ sentetazın düzeyinde artışa neden olması, hava yolu inflamasyonunda s-LT'in önemini arttırmıştır (151). ASA duyarlı hastalarda solunumsal yakınmaların artışında s-LT reseptörlerin sorumlu olduğu lökotrien reseptör antagonistleri ile yapılan çalışmalarla gösterilmeye çalışılmıştır (152). Yapılan bir çalışmada 2 hafta süreyle 1300 mg/gün şeklinde uygulanan ASA desensitizasyonundan sonra LTE₄'ün idrardaki atılımında azalma ile kan monositlerinde Tromboxane-B₂ ve COX-1 düzeyinin istatistiksel anlamlı düzeyde azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca LTB₄ ve 5-LO'nun da istatistiksel anlamlı düzeyde düştüğü gösterilmiştir (146). Yapılan diğer çalışmalarda ise inhale LTE₄'e hava yolu duyarlılığının ilk günden itibaren 20 kat azaldığı gözlenmiştir (25).

Prostoglandinler, lökotrien yolunda olduğu kadar, eozinofil, mast hücresi, nötrofil ve fibroblast gibi inflamatuvar hücre cevabında da önemli rol oynar (153, 154). Nazal dokuda oluşan dekonjesyonun nedeni ise mast hücrelerinden histamin ve PGD₂ salgılamasında azalma olması ve/veya s-LT₁ ile s-LT₂ reseptörlerinin mukus sekresyonu yapan bezler ve nazal kan damarlarının endotelial hücrelerinde bloklamasından kaynaklandığı gösterilmiştir. PGE₂'nin hem lökotrienler üzerine, hem de inflamatuvar hücreler üzerine etkisi bilinen bir gerçektir. ASA ile PGE₂ yapımının azaltılması hem fibroblast, makrofaj, nötrofil ve eozinofil artışına, hem de bu hücrelerden lökotrien sentezinde artışa neden olur (151, 155). PGE₂'nin lenfosit ve eozinofil fonksiyonları ve sitokin salgılaması üzerine etkisi ve astımda rolü üzerine çalışmalar yapılmaya devam etmektedir.

ASA desensitizasyonunun inflamatuvar hücrelerden sitokin salgılaması üzerine etkisi ise hala açık değildir. Lökotrien ve prostoglandinlerin ADA'da çok önemli rol oynadığını gösteren çalışmalara ek olarak, T lenfositlerin etkisi üzerine yapılacak daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Bir çalışmada IFN- γ salgılayan T

lenfositlerin oranının ASA duyarlılığı olmayan astımlı hastalarda normal kontrol grubu ile karşılaştırıldığında artmış olduğu görülmüştü (156). Fakat diğer çalışmalar astımda hastalığa neden mi olduğu, yoksa agreeve mi ettiği konusunu aydınlatamamıştır (157, 158). Bir çalışma IFN- γ 'nın artmış salınımının astımlı hastalarda Th₂ tipi sitokinlere karşı çapraz inhibisyon şeklinde artmış olabileceği üzerine yoğunlaşmıştır (159). IFN- γ hem doğal, hem de kazanılmış immun cevabı kontrol eden bir sitokindir. CD4⁺ T lenfositlerin Th₁ alt grubundan sunularak Th₂ tipi hücrelerin proliferasyonunu engellediği bilinmektedir. Bu yönüyle Th₂ inflamasyonu baskılayıcı özelliği vardır. Bizim çalışmamızda ADA'lı hastalarda CD4⁺ T lenfositlerden salınan IFN- γ oranı, normal-kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hem desensitizasyon öncesi, hem de desensitizasyon sonrası azalmış olarak bulunmuştu. ASA toleran astımlı kontrol grubunda ise normal-kontrol grubu ile karşılaştırıldığında fark tesbit edilmemişti. Bu bulgular ADA'lı hastalarda astım tedavisi altında dahi defektif IFN- γ cevabı olabileceğini ve bu cevabın bir aylık ASA desensitizasyonu sonrası önemli ölçüde değişmediğini düşündürmektedir. Shome ve ark. (113)'nin yaptığı ve ADA'lı bir hastaya aldıkları çalışmada ASA desensitizasyonu öncesindeki değer, sonrası değer ile karşılaştırıldığında IFN- γ salınımı yapan CD4⁺ T lenfosit oranının istatistiksel anlamlı olarak arttığı, bizim çalışmamızda olduğu gibi başlangıç değeri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında da istatistiksel anlamlı oranda azalmış olduğu bulunmuştu. Yazarlar bu çalışma ile ASA desensitizasyon tedavisinden sonra IFN- γ salınımı yapan CD4⁺ T lenfositlerin oranında artış sonucu Th₁ cevabında artış olduğunu, ASA tedavisi ile ortaya çıkan PGE₂ inhibisyonunun bu Th₁ cevap artışına neden olabileceğini belirtmişlerdir. Desensitizasyonun etkisinin T hücreler yoluyla bu şekilde gerçekleşebileceğini düşünmüşlerdir. Ancak bizim çalışmamızda daha büyük hasta grubunda desensitizasyonun bu etkisine yönelik açıklama desteklenmemektedir. Çalışmamızda IL-2 salınımı yapan T lenfositlerin oranı kontrol grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel fark saptanmaz iken, astımlı kontrol grubu normal-kontrol grubu ile kıyaslandığında IL-2 oranının yine istatistiksel farklı olmadığı saptanmıştı. Desensitizasyon öncesi değer, sonrası ile karşılaştırıldığında da yine fark olmadığını saptadık. Bütün prostoglandinlerin IL-2 ve IFN- γ üretimini inhibe ettiği hücre kültürüyle invitro çalışmalarda gösterilmiştir. Ancak çalışmamız sırasında bir aylık

desensitizasyon dönemini göz önüne aldığımızda ve IL-2 ve IFN- γ salınım yapan lenfositlerin oranında artış beklenir iken, bizim çalışmamızda düzeyin değişmemiş olduğunu saptadık. Çalışmamızda IL-4 düzeyi normal-kontrol grubu ve astımlı kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda fark saptanmaz iken, desensitizasyon öncesi ve sonrası arasında da istatistiksel fark saptanmamıştı. Prostaglandinlerin IL-4 salınım üzerine ise bazı çalışmalarda arttırma (160), bazısında azaltma (161), bazısında ise anlamlı etkisi olmadığı (162, 163) belirtilmiştir. Pietruszewska ve ark. (164) polip dokusundaki Th₁ lenfositlerden salınan IFN- γ düzeyinin non-atopik ve atopik bireyler karşılaştırdıklarında iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark saptamaz iken, rekürren polip şikayeti olan hastalarda IFN- γ 'nın anlamlı düşük olduğu bulunmuştu Cianforeni ve ark. (165)'nin yaptığı çalışmada tedavi dozundaki ASA insan periferik kanından elde edilen CD4+ T hücreleri ile işleme maruz bırakıldığında IL-4 sekresyonuna neden olan RNA salınımında anlamlı azalmaya neden olmuştu. Buna karşın IL-2 ve IFN- γ salınımını değiştirmemişti. Bu çalışma ile terapötik düzeyde ASA'nın aktive CD4+ T hücrelerinde IL-4 gen salınımını anlamlı olarak inhibe ettiği bulunmuştu. Bu düşmenin ASA ile tedavi edilen hücrelerde azalan canlılık veya bozulmuş temel biyokimyasal ve moleküler fonksiyonlar veya erken apoptotik markerlerin salınımı ile ilişkisiz olduğu görülmüştü. Bizim çalışmamız in vivo ortamda yapılmış olup, bu çalışmada olduğu IL-2 ve IFN- γ oran değişmemiştir. ASA bu çalışmada IL-4 gen salınımını inhibe etmiş, ancak bizim çalışmamızda bir aylık desensitizasyon sürecinde yine değişiklik saptanmamıştı.

CD4+ T hücrelerin astımın patogenezindeki rolü daha önce gösterilmiş olmasına rağmen CD8+ T lenfositlerin rolü hakkında çok az bilgiye sahibiz. CD4/CD8 oranı atak sırasında şiddetli astımlılarda, hafif astımlılar ile karşılaştırıldığında istatistiksel fark saptanmamıştı (166). Yine bu çalışmada sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında da gruplar arasında fark olmadığı saptanmıştı. Bizim çalışmamızda CD4/CD8 lenfosit oranının normal-kontrol ve ATA ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak farklı olmadığı, desensitizasyon sonrasında da bu oranın değişmediği görülmüştür. Bernstein ve ark. (167)'nin yaptığı çalışmada, nazal polip dokusu ve periferik kandaki CD4, CD8 tipi sitokin yapan lenfositlerin yüzdesi karşılaştırıldığında nazal polip T hücrelerinin dağılımı periferik kan hücrelerinin dağılımından farklı bulunmuş, bunun nedeninin nazal dokuda allerjen,

mantar, bakteri gibi iritanların etkisinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Nazal polip dokusundaki T hücrelerinin önemli miktarını CD8+ T hücreler oluşturur iken, CD4+ T lenfositler periferik kanda anlamlı oranda yüksek bulunmuştu. Dolayısıyla kanda CD4/CD8 oranı anlamlı oranda yüksek bulunmuştu. Bizim çalışmamızda polip dokusundaki oran bakılmamış olmakla birlikte, kandaki oranın desensitizasyon öncesi değerinin her iki kontrolden farklı olmadığını, desensitizasyon sonrası bu oranın değişmediğini gördük. Taylor ve ark. (168)'nin yaptığı çalışmada da eşit sayıda ASA'ye duyarlı ve duyarlı olmayan hastanın alındığı çalışmada kanda CD4+ T hücre oranı, normal kişilerde %51.3 bulunur iken, ADA'lı olgularda %51.1, ASA'ye duyarlı olmayan grupta ise %46.1 (P=0.4) bulunmuş, gruplar arasında istatistiksel fark olmadığı saptanmıştı.

Bizim çalışmamızda bir diğer ilginç bulgu ASA desensitizasyon tedavisi sonrası CD19+ lenfositlerin oranında kontrollere göre azalma olmasıdır. CD19 B lenfosit belirteci olup özellikle allerjik inflamasyonda rol almaktadır. B lenfositler IgE yapımında rol almaktadır. Astımlılar allerjik olmasalar bile IgE yüksekliği olduğu bilinmektedir. ADA'lılarda nazal polip dokularında lokal IgE oluşumu gösterilmiştir (169). Bu lokal IgE hastalar non-atopik olsa bile mikrobiyal antijenlere karşı gelişmekte ve nazal eozinofiliyi arttırmaktadır. Alt havayollarında bu etkinin olup olmadığı bilinmemektedir. Bizim çalışmamızda desensitizasyon sonrası CD19 sunumunda azalma IgE üzerindeki bu etki ile eozinofilinin azalması ile ilgili olabilir. Desensitizasyonun IgE yolu üzerine etkisi ile ilgili çalışmalara ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak, desensitizasyon ADA'lılarda birinci ayın sonunda da gözlenebilen klinik (astım semptomları ve nazal semptomlarda azalmaya), inflamatuvar skorlarda düzelmeye (nazal eozinofili) neden olmaktadır. Bu klinik düzelme bir aylık desensitizasyon tedavisi sonrası CD4+ T lenfositlerden sunulan Th₁ ve Th₂ cevabında rol alan IFN- γ , IL-2 ve IL-4 cevaplarında değişikliklerle birlikte değildir. Ancak bir ayın sonundaki CD19 cevabındaki azalma immunolojik cevaba katkıda bulunabilir. CD4+ hücrelerden Th₁ ve Th₂ kaynaklı sitokinlere desensitizasyonun etkisini gözleyebilmek için daha uzun sürede bu sitokin cevaplarının ölçülmesi hastalığın immunpatogeneziğine katkı sağlayabilir. ASA desensitizasyonunun ADA'lılardaki immunolojik etkisine yönelik mekanizmaları

aydınlatmak için sadece CD4+ hücreler değil diğer lenfosit alt grupları ile yapılacak ileri çalışmalara gereksinim vardır.

6. SONUÇLAR

ADA tanısı ile takip edilen 12 hastanın dahil edildiği çalışmamızda başlangıç değerleriyle karşılaştırıldığında;

1. AKT değerlerinde yükselme ($p=0.001$), koku düzeyinde artış, 75 Pa basınç değerlerinde akımda artış ($p=0.025$) ve dirençte düşme ($p=0.023$), 150 Pa basınç değerlerinde akımda artış saptanmıştır ($p=0.005$).
2. Desensitizasyon öncesi alınan nazal sürüntü örneklerinde nötrofil oranı desensitizasyon sonrası alınan örnekler ile karşılaştırıldığında artış gösterirken ($p=0.021$), eozinofil oranında düşme gözlenmiştir ($p=0.021$).
3. Desensitizasyon öncesi FEV1 değerleri karşılaştırıldığında %15-19 düşme olan hasta sayısı 1. gün; bir hastada saptanırken, 2. ve 3. gün saptanmamıştır. %20-29 düşme oranı olan hasta sayısı 1. gün; bir hastada, 2. gün; 1 hastada, %30 düşme oranı olan hasta sayısı ise 3 idi.
4. ADA'lı hastalarda desensitizasyon öncesi IFN- γ sunan CD4+ T lenfosit oranı normal-kontrolden düşük bulunmuştur ($p=0.040$).
5. ADA'lı grupta desensitizasyon sonrası IFN- γ sunan CD4+ T lenfosit oranı normal-kontrolden düşük olarak saptanmıştır ($p=0.036$).
6. ADA'lı grupta desensitizasyon sonrası CD19 değeri, normal-kontrolden düşük olarak saptanmıştır ($p=0.047$).

KAYNAKLAR

1. Stevenson DD. Aspirin and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Immunol Allergy Clin Nort Am*. 1995;15:529-49.
2. Widal MF, Abrani P, Lermoyez J. Anaphylaxie et idiosyncrasie. *Presse Med*. 1922;30:189-92.
3. Samter M, Beers RF. Concerning the nature of intolerance to ASA. *J Allergy*. 1967;40: 281-93.
4. Zeiss CR, Lockey RF. Refractory period to aspirin in a patient with aspirin-induced asthma. *J Allergy Clin Immunol*. 1976;57:440-8.
5. Stevenson DD, Simon RA, Mathison DA. Aspirin-sensitive asthma: tolerance to aspirin after positive oral aspirin challenges. *J Allergy Clin Immunol*. 1980;66:82-8.
6. Stevenson DD, Sanchez-Borges M, Szczeklik A. Classification of allergic and pseudoallergic reactions to drugs that inhibit cyclooxygenase enzymes. *Ann All Asthma Immunol*. 2001;87:177-80.
7. Stevenson DD. Diagnosis, prevention, and treatment of adverse reactions to aspirin and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *J Allergy Clin Immunol*. 1984;74:617-22.
8. Jenkins C, Costello J, Hodge L. Systemic review of prevalence of aspirin induced asthma and its implications for clinical practice. *BMJ*. 2004;328:434-40.
9. Dekker JW, Nizankowska E, Schmitz-Schumann M, Pile K, Bochenek G, Dyczek A, Cookson WO, Szczeklik A. Aspirin-induced asthma and HLA-DRB1 and HLA-DPB1 genotypes. *Clin Exp Allergy*. 1997;27:574-7.
10. Choi JH, Lee KW, Oh HB, Lee KJ, Suh YJ, Park CS, Park HS. HLA association in aspirin intolerant asthma: DPB1*0301 as a strong marker in a Korean population. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;111:562-4.
11. Sanak M, Simon HU, Szczeklik A. Leukotriene C4 synthase promoter polymorphism and risk of aspirin-induced asthma. *Lancet*. 1997;29:599-600.

12. Bochenek G, Nizankowska E, Szczeklik A. The atopy triad in hypersensitivity to nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *Allergy*. 1996;51:16-23.
13. Samter M, Beers RF. Intolerance to Aspirin: Clinical studies and consideration of its pathogenesis. *Ann Intern Med*. 1968; 68:974-84. (Abstract)
14. Çelik G, Mungan D, Özer F, Ediger D, Bavbek S, Sin B, Demirel YS, and Mısırlıgil Z. Clinical features and atopy profile in Turkish subjects with analgesic intolerance. *J Asthma*. 2002;39,101-6.
15. Stevenson DD, Simon RA. Sensitivity to aspirin and nonsteroidal anti-inflammatory drugs. In: Middleton E, Ellis EF, Yunginger JW, Reed CE, Adkinson NF, Busse WW editors. *Allergy: Principles and Practice*. 5th ed. St. Louis, Missouri: Mosby Company; 1998;p.1225-34.
16. Szczeklik A, Sanak M, Nizankowska ME, Kielbasa B. Aspirin intolerance and the cyclooxygenase-leukotriene pathways. *Curr Opin Pulm Med*. 2004;10:51-6.
17. Holgate ST, Burns GB, Robinson C, Church MK. Anaphylactic-and calcium-dependent generation of prostaglandin D₂ (PGD₂), thromboxane B₂, and other cyclooxygenase products of arachidonic acid by dispersed human lung cells and relationship to histamine release. *J Immunol*. 1984;133:2138-44.
18. Churchill L, Chilton FH, Resau JH, Bascom R, Hubbard WC, Proud D. Cyclooxygenase metabolism of endogenous arachidonic acid by cultured human tracheal epithelial cells. *Am Rev Respir Dis*. 1989;140:449-59.
19. Sousa A, Pfister R, Christie PE, Lane SJ, Nasser SM, Schmitz-Schumann M, Lee TH. Enhanced expression of cyclo-oxygenase isoenzyme 2 (COX-2) in asthmatic airways and its cellular distribution in aspirin-sensitive asthma. *Thorax*. 1997;52:940-45.
20. Everts B, Wahrborg P, Hedner T. COX-2 specific inhibitors-the emergence of a new class of analgesic and anti-inflammatory drugs. *Clin Rheumatol*. 2000;19:331-43.
21. Hawkey CJ. COX-2 inhibitors. *Lancet*. 1999;353:307-14.

22. Delaney JC: The diagnosis of aspirin idiosyncrasy by analgesic challenge. *Clin Allergy*. 1976;177-81.
23. Christie PE, Tagari P, Ford-Hutchinson AW, Charlesson S, Chee P, Arm JP, Lee TH. Urinary leukotriene E4 concentrations increase after aspirin challenge in aspirin sensitive asthmatic subjects. *Am Rev Respir Dis*. 1991;143:1025-9.
24. Sousa AR, Parikh A, Scadding G, Christopher JC, Lee TH. Leukotriene-Receptor Expression on nasal mucosal inflammatory cells in aspirin-sensitive rhinosinusitis. *NEJM*. 2002;347:1493-9.
25. Arm JP, Austen KF. Leukotriene receptors and aspirin sensitivity. *NEJM*. 2002; 347:1524-6.
26. Arm JP, O'Hickey SP, Spur BW, Lee TH. Airway responsiveness to histamine and leukotriene E4 in subjects with aspirin-induced asthma. *Am Rev Respir Dis*. 1989;140:148-53.
27. Kowalski ML. Aspirin-sensitive rhinosinusitis/asthma syndrome pathophysiology and management. *ACI international*. 1996;8:49-56.
28. Szczeklik A, Stevenson DD. Aspirin-induced asthma: advances in pathogenesis, diagnosis, and management. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;111:913-21.
29. Sanak M, Sampson AP. Biosynthesis of cysteinyl leukotrienes in aspirin-intolerant asthma. *Clin Exp Allergy*. 1999;29:306-13.
30. Nasser SM, Pfister R, Christie PE, Sousa AR, Barker J, Schmitz-Schumann M, Lee TH. Inflammatory cell populations in bronchial biopsies from aspirin-sensitive asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med*. 1996;153:90-6.
31. Juergens UR, Christansen SC, Stevenson DD, Zuraw BL. Arachidonic acid metabolism in monocytes of aspirin sensitive asthmatic patients before and after oral aspirin challenge. *J Allergy Clin Immunol*. 1992;90:636-45.
32. Nasser S, Christie PE, Pfister R, Sousa AR, Walls A, Schmitz-Schumann M, Lee TH. Effect of endobronchial aspirin challenge on inflammatory cells in bronchial biopsy samples from aspirin-sensitive asthmatic subjects. *Thorax*. 1996;51:64-70.

33. Kowalski ML, Ptatinska A, Bienkiewicz B, Pawliczak R, DuBuske L. Differential effects of aspirin and misoprostol on 15-hydroxyeicosatetraenoic acid generation by leukocytes from aspirin-sensitive asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;12:505-12.
34. Sanak M, Levy BD, Clish CB, Chiang N, Gronert K, Mastalerz L, Serhan CN, Szczeklik A. Aspirin-tolerant asthmatics generate more lipoxins than aspirin-intolerant asthmatics. *Eur Resp J.* 2000;16:44-9.
35. Levy BD, De Sanctis GT, Devchand PR, Kim E, Ackerman K, Schmidt BA, Szczeklik W, Drazen JM, Serhan CN. Multi-prolonged inhibition of airway hyper-responsiveness inflammation by lipoxin A4. *Nat Med.* 2002;8:1018-23.
36. Çelik G, Mørçligil Z. Lipoxins in asthma: is it still different in severe asthma with or without analgesic intolerance? *J Allergy Clin Immunol. J Allergy Clin Immunol.* 2004;114:992.
37. Serhan CN. Lipoxins and aspirin-triggered 15-epi-lipoxin biosynthesis: an update and role in anti-inflammation and pro-resolution. *Prost and Other Lip Mediat.* 2002;6:433-55.
38. Sladek K, Dworski R, Soja J, Sheller JR, Nizankowska E, Oates JA, Szczeklik A: Eicosanoids in bronchoalveolar lavage fluid of aspirin intolerant patients with asthma after aspirin challenge. *Am J Resp Crit Care Med.* 1994; 149:940-4.
39. Yamamoto H, Nagata M, Kuramitsu K, Tabe K, Kiuchi H, Sakamoto Y, Yamamoto K, Dohi Y: Inhibition of analgesic induced asthma by leukotriene receptor antagonist ONO-1078. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994;150:254-7.
40. Szczeklik A. Aspirin-induced asthma as a viral disease. *Clin Allergy.* 1988;18:15-20.
41. Toyoshima M, Sato A, Tanigushi M, et al. Toyoshima M, Sato A, Taniguchi M, Imokawa S, Nakazawa K, Hayakawa H, Chida K. *Nihon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi.* 1995;33:691-4. (Abstract)
42. Hassan AM. Glutathione peroxidase activity in blood cells from aspirin-induced asthma patients. *Ann Clin Biochem.* 2003;40:369-73.

43. Bochenek G, Nagraba K, Nizankowska E, Szczeklik A. A controlled study of 9alpha, 11beta-PGF₂ in plasma and urine of patients with bronchial asthma and healthy controls after aspirin challenge. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;111:743-9.
44. Szczeklik A, Nizankowska E, Duplaga M. Natural history of aspirin-induced asthma. *Eur Respir J.* 2000;16:432-6.
45. Johansson SG, Hourihane JO, Bousquet J, Bruijnzeel-Koomen C, Dreborg S, Haahtela T, Kowalski ML, Mygind N, Ring J, van Cauwenberge P, van Hage-Hamsten M, Wüthrich B. A revised nomenclature for allergy. An EAACI position statement from the EAACI nomenclature task force. *Allergy.* 2001;56:813-4.
46. Rosado A, Vives R, González R, Rodríguez J. Can NSAIDs intolerance disappear? A study of three cases. *Allergy.* 2003;58:689-90.
47. Kowalski ML. Rhinosinusitis and nasal polyposis in aspirin sensitive and aspirin tolerant patients: are they different? *Thorax* 2000 (Suppl 2):84-6.
48. Kowalski ML, Grzegorzczak J, Pawliczak R, Kornatowski T, Wagrowska-Danilewicz M, Danilewicz M. Decrease apoptosis and distinct profile of infiltrating cells in the nasal polyps of patients with aspirin hypersensitivity. *Allergy.* 2002;57:493-500.
49. Marquette CH, Saulnier F, Leroy O, Wallaert B, Chopin C, Demarcq JM, Durocher A, Tonnel AB. Long term prognosis for near-fatal asthma. *Am Rev Respir Dis.* 1992;146:76-81.
50. Picado C, Castillo JA, Montserrat JM, August-Vidal A. Aspirin-intolerance as a precipitating factor of life-threatening attacks of asthma requiring mechanical ventilation. *Eur Respir J.* 1989;2:127-9.
51. Bochenek G, Nizankowska E, Szczeklik A. Testing for aspirin hypersensitivity. *Allergy.* 2002;57:562-5.
52. Antczak A, Montuschi P, Kharitonov S, Gorski P, Barnes PJ. Increased exhaled cysteinyl-leukotrienes and 8-isoprostan in aspirin-induced asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;166:301-6.

53. Nasser SM, Patel M, Bell GS, Lee TH. The effect of aspirin desensitization on urinary leukotriene E4 concentrations in aspirin-sensitive asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;151:1326-30.
54. Stevenson DD, Hankammer MA, Mathison DA, Christiansen SC, Simon RA. Aspirin desensitization treatment of aspirin-sensitive patients with rhinosinusitis-asthma: long term outcomes. *J Allergy Clin Immunol.* 1996;98:751-8.
55. Berges-Gimeno MP, Simon RA, Stevenson DD. Early effects of aspirin desensitization treatment in asthmatic patients with aspirin-exacerbated respiratory disease. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2003;90:338-41.
56. Arm JP, O'Hickey SP, Hawksworth RJ, Fong CY, Crea AE, Spur BW, Lee TH. Asthmatic airways have a disproportionate hyperresponsiveness to LTE₄, as compared with normal airways, but not to LTC₄, LTD₄, methacholine and histamine. *Am Rev Respir Dis.* 1990;142:1112-8.
57. Asero R. Risk factors for acetaminophen and nimesulide intolerance in patients with NSAID-induced skin disorders. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1999;82:554-8.
58. Vervloet D, Pradal M, Castelain M. *Drug Allergy.* (3. rd ed). Uppsala: Pharmacia & Upjohn, 1999.
59. Quiralte J, Bianco C, Castillo R, Delgado J, Carrillo T. Intolerance to nonsteroidal antiinflammatory drug challenges in 98 patients. *J Allergy Clin Immunol.* 1996;98:678-85.
60. Lebel B, Messaad D, Kvedariene V, Rongier M; Bousquet J, Demoly P. Cysteinyl-leucotriene release test (CAST) in the diagnosis of immediate drug reactions. *Allergy.* 2001;56:688-92.
61. De Weck AL, Sanz ML. Flow cytometric cellular allergen stimulation test (FAST/Flow-CAST). *ACI International.* 2002;14:204-15.
62. Ferreri NR, Howland WC, Stevenson DD, Spiegelberg HL. Release of leukotrienes, prostoglandins, and histamine into nasal secretions of aspirin

- sensitive asthmatics during reaction to aspirin. *Am Rev Resp Dis.* 1988;137:847-51.
63. Berges-Gimeno MP, Simon RA, Stevenson DD. Long term treatment with aspirin desensitization in asthmatic patients with aspirin-exacerbated respiratory disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;111:180-6.
 64. Naeije N, Bracamonte M, Michel O, Sergysels R, Duchateau J. Effects of chronic aspirin ingestion in aspirin-intolerant asthmatic patients. *Ann Allergy.* 1984;53:262-7.
 65. Sweet JM, Stevenson DD, Mathison DA, Simon RA. Long term effects of aspirin (ASA) desensitization treatment for ASA sensitive rhinosinusitis/asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 1990;85:59-65.
 66. Szmidt W, Wasiaak W. The influence of misoprostol (synthetic analogue of prostaglandin E1) on aspirin-induced bronchoconstriction in aspirin-sensitive asthma. *J Investig Allergol Clin Immunol.* 1996;6:121-5
 67. Yoshida S, Sakamoto H, Yamawaki Y, Shoji T, Akahori K, Onuma K, Nakagawa H, Hasegawa H, Amayasu H. Effect of acyclovir on bronchoconstriction and urinary leukotriene E4 excretion in aspirin-induced asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 1998;102:909-14.
 68. Shoji T, Yoshida S, Sakamoto H, Hasegawa H, Nakagawa H, Amayasu H. Antiinflammatory effect of roxithromycin in patients with aspirin intolerant asthma. *Clin Exp Allergy.* 1999;29:950-6.
 69. Szczeklik A, Dworski R, Mastalerz L, Prokop A, Sheller JR, Nizankowska E, Cmiel A, Oates JA. Salmeterol prevents aspirin-induced attacks of asthma and interferes with eicosanoid metabolism. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;158:1168-72.
 70. Levy BD, Serhan CN. Exploring new approaches to the treatment of asthma: potential roles for lipoxins and aspirin-triggered lipid mediators. *Drugs today.* 2003;39:373-84.
 71. Abbas AK, Murphy KM, Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature.* 1996;383:787-93.

72. Benlagha K, Kyin T, Beavis A, Teyton L, Bendelac A. A thymic precursor to the NKT cell lineage. *Science* 2002;296:553-55.
73. Kaya Kılıçturgay. Kan Hücrelerinin (Beyaz Seri) Gelişimi. İçinde: Kaya Kılıçturgay. İmmünoloji. Nobel tıp kitabevi. 2003;15-53.
74. Metcalf D, Brumby M. The role of the thymus in the ontogeny of the immune system. *J Cell Physiol.* 1966;67:Suppl:149-68.
75. Wang X, Mosmann T. In vivo priming of CD4 T cells that produce interleukin (IL)-2 but not IL-4 or interferon (IFN- γ), and can subsequently differentiate into IL-4- or IFN- γ secreting cells. *J Exp Med.* 2001;194:1069-80.
76. Chen Q, Ghilardi N, Wang H, Baker T, Xie MH, Gurney A, Grewal IS, de Sauvage FJ. Development of Th1-type immune responses requires the type I cytokine receptor TCCR. *Nature.* 2000;394:916-20.
77. Smits HH, Hilkens CM, Kalinski P, Kapsenberg ML, Wierenga EA. How to deal with polarized Th2 cells: exploring the Achilles' heel. *Int Arch Allergy Immunol.* 2001;126:102-10.
78. Dykewicz MS, Fineman S, Skoner DP, Nicklas R, Lee R, Blessing-Moore J, Li JT, Bernstein IL, Berger W, Spector S, Schuller D. Diagnosis and management of rhinitis: complete guidelines of the Joint Task Force on Practice Parameters in Allergy, Asthma and Immunology. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 1998;81:478-518.
79. Ciprandi G, Cirillo I, Vizzaccaro A, Milanese M, Tosca MA. Airway function and nasal inflammation in seasonal allergic rhinitis and asthma. *Clin Exp Allergy.* 2004;34:891-6.
80. Simon HU. Targeting apoptosis in the control of inflammation. *Eur Respir. J.* 2003;22 (suppl44):20-21.
81. Foresi A, Teodoro C, Leone C, Pelucchi A, D'Ippolito R, Chetta A, Olivieri D. Eosinophils apoptosis in induced sputum from patients with seasonal allergic rhinitis and with asymptomatic and symptomatic asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2000;84:411-16.

82. Kankaanranta H, Lindsay MA, Giembycz MA, Zhang X, Moilanen E, Barnes PJ. Delayed eosinophils apoptosis in asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2000;106:77-83.
83. Adams JM. Way of dying: Multiple pathways to apoptosis. *Genes Dev.* 2003 Oct 15;17:2481-95.
84. Greenstein S, Ghias K, Krett NL, Rosen S. Mechanism of glucocorticoid mediated apoptosis in hematological malignancies. *Clin Cancer Res.* 2002;8:1681-94.
85. Wang J, Zheng L, Lobito A, Chan FK, Dale J, Sneller M, Yao X, Puck JM, Straus SE, Lenardo MJ. Inherited human caspase 10 mutations underlie defective lymphocyte and dendritic cell apoptosis in autoimmune lymphoproliferative syndrome II. *Cell.* 1999;98:47-58.
86. Jackson CE, Fischer RE, Hsu AP, Anderson SM, Choi Y, Wang J, Dale JK, Fleisher TA, Middleton LA, Sneller MC, Lenardo MJ, Straus SE, Puck JM. Autoimmune lymphoproliferative syndrome with defective Fas: genotype influences penetrance. *Am J Hum Genet.* 1999;4:1002-14.
87. Vignola AM, Chanez P, Chiappara G, Siena L, Merendino A, Reina C, Gagliardo R, Profita M, Bousquet J, Bonsignore G. Evaluation of apoptosis of eosinophils, macrophages and T lymphocytes in mucosal biopsy specimens of patients with asthma and chronic bronchitis. *J Allergy Clin Immunol.* 1999;103:563-73.
88. Jang AS, Choi IS, Lee S, Seo JP, Yang SW, Park CS. Bcl-2 expression in sputum eosinophils in patients with acute asthma. *Thorax* 2000;55:370-74.
89. Woolley KL, Gibson PG, Carty K, Wilson AJ, Twaddell SH, Woolley MJ. Eosinophils apoptosis and the resolution of airway inflammation in asthma. *Am J Crit Care Med.* 1996;154:237-43.
90. Simon HU. Targeting apoptosis in the control of inflammation. *Eur Respir. J.* 2003;22:20-21.
91. Ohta K, Yamashita N. Apoptosis of eosinophils and lymphocytes in allergic inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 1999;104:14-21.

92. Ho CY, Wong CK, Ko FW, Chan CH, Ho AS, Hui DS, Lam CW. Apoptosis and B cell lymphoma-2 of peripheral blood T lymphocytes and soluble Fas in patients with allergic asthma. *Chest*. 2002;122:1751-58.
93. Jayaraman S, Castro M, O'Sullivan M, Bragdon MJ, Holtzman MJ. Resistance to Fas-mediated T cell apoptosis in asthma. *J Immunol*. 1999;162:1717-22.
94. Oppenheim JJ, Ruscetti FW. Cytokines. In: Parslaw TG, Stites OP, Terr AI, Imoden JB editors. *Lange Medical Immunology*. 10th ed. New York: Lange Medical Books/McGraw Hill;2001.p.148-67.
95. Elgert KD. *Immunology: Understanding the Immune System*. New York: Wiley Liss/A John Wiley & Sons Inc Publishing Company;1996.p.199-217.
96. Sharon J. *Basic Immunology*. Baltimore:Williams & Wilkins/A Waverly Company; 1998.p.107-23.
97. Tizard IR. *Immunology: An Introduction*. Philadelphia: Saunders College Publishing; 1995.p.155-68.
98. Old LJ. Tumor Necrosis Factor (TNF). *Science*. 1985;230:630-35.
99. Lord G. Role of leptin in immunology. *Nutr Rev*. 2002;60:35-38.
100. Look DC, Rapp SR, Keller BT, Holtzman MJ. Selective induction of intracellular adhesion molecule-1 by interferon-gamma in human airway epithelial cells. *Am J Physiol*. 1992;263:79-87.
101. Gifford GE, Lohmann-Matthes ML. Gamma interferon priming of mouse and human macrophages for induction of tumor necrosis factor production by bacterial lipopolysaccharide. *J Natl Cancer Inst*. 1987;78:121-4.
102. Koning H, Neijens HJ, Baert MR, Oranje AP, Savelkoul HF. T cell subsets and cytokines in allergic and nonallergic children. I. Analysis of IL-4, IFN- γ and IL-13 mRNA expression and protein production. *Cytokine*. 1997;9:416-26.
103. Lack G, Bradley KL, Hamelmann E, Renz H, Loader J, Leung DY, Larsen G, Gelfand EW. Nebulized IFN- γ inhibits the development of secondary allergic responses in mice. *J Immunol*. 1996;157:1432-9.

104. Durham SR, Till SJ. Immunologic changes associated with allergen immunotherapy. *J Allergy Clin Immunol.* 1998;102:157-64.
105. Bentley AM, Hamid Q, Robinson DS, Schotman E, Meng Q, Assoufi B, Kay AB, Durham SR. Prednisolone treatment in asthma. Reduction in the numbers of eosinophils, T cells, tryptase-only positive mast cells, and modulation of IL-4, IL-5, and interferon-gamma cytokine gene expression within the bronchial mucosa. *Am J Respir Crit Care Med.* 1996;153:551-6.
106. Leung DY, Martin RJ, Szeffler SJ, Sher ER, Ying S, Kay AB, Hamid Q. Dysregulation of interleukin 4, interleukin 5, and interferon gamma gene expression in steroid-resistant asthma. *J Exp Med.* 1995;181:33-40.
107. Yokota T, Otsuka T, Mosmann T, Banchereau J, DeFrance T, Blanchard D, DeVries JE, Lee F, Arai K. Isolation and characterization of a human interleukin cDNA clone, homologous to mouse B-cell stimulatory factor 1, that expresses B-cell- and T-cell-stimulating activities. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1986;83:5894-8.
108. Daher S, Santos LM, Sole D, De Lima MG, Naspitz CK, Musatti CC: Interleukin-4 and soluble CD23 serum levels in asthmatic atopic children. *J Invest Allergol Clin Immunol.* 1995;5:251-54.
109. Brain D. The nasal septum: Scott- Brown's Otolaryngology Sixth Edition Reed Educational and Professional Publishing Ltd Great Britain, Bath. 1997;4:11-27.
110. Yarıktaş M, Karaoğlan İ, Doğru H, Tüz M, Yasan H, Döner F. *KBB Klinikleri.* 2004;6:1-3.
111. Chipps BE, Spahn JD. What are the determinates of asthma control? *J Asthma.* 2006;43:567-72.
112. Berges-Gimeno MP, Simon RA, Stevenson DD, Calif LJ. Long-term treatment with aspirin desensitization in asthmatic patients with aspirin-exacerbated respiratory disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;111:180-6
113. Shome GP, Tarbox J, Shearer M. Cytokine expression in peripheral blood lymphocytes before and after aspirin desensitization in aspirin-exacerbated respiratory disease. *Allergy Ast Proc.* 2007;28:706-10.

114. Stevenson DD, Simon RA. Selection of patients for aspirin desensitization treatment. *J Allergy Clin Immunol.* 2006;118:801-4.
115. Picker LJ, Singh MK, Zdraveski Z, Treer JR, Waldrop SL, Bergstresser PR, Maino VC. Direct demonstration of cytokine synthesis heterogeneity among human memory/effector T cells by flow cytometry. *Blood.* 1995;86:1408-19.
116. Carbonari M, Cibati M, Fiorilli M. Measurement of apoptotic cells in peripheral blood. *Cytometry.* 1995;22:161-7.
117. Malm L. Rhinomanometric assessment for rhinologic surgery, *Ear Nose Throat J.* 1992;71:11-14.
118. Stevenson DD. Aspirin desensitization in patients with AERD. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2003;24:159-67.
119. Lee JY, Simon RA, Stevenson DD. Selection of aspirin dosage for aspirin desensitization treatment in patients with aspirin-exacerbated respiratory disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;119:157-64.
120. Hope AP, Woessner KA, Simon RA, Stevenson DD. Rational approach to aspirin dosing during oral challenges and desensitization of patients with aspirin-exacerbated respiratory disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;123:406-10.
121. Williams AN, Simon RA, Woessner KM, Stevenson DD. The relationship between historical aspirin-induced asthma and severity of asthma induced during oral aspirin challenges. *J Allergy Clin Immunol.* 2007;120:273-7.
122. Perez AO. Nasal provocation test (NPT) through previously active rhinomanometry: Physical and mathematical reasons. *Allergol Immunopathol* 1989;17:291-99.
123. Alonso-Llamazares A, C. Martinez-Co´cera, Dom´nguez-Ortega J, Robledo-Echarren T, Cimarra-Alvarez M, Mesa del Castillo M.. Nasal provocation test (NPT) with aspirin: a sensitive and safe method to diagnose aspirin-induced asthma (AIA). *Allergy.* 2002;57:632-35.

124. Polgar G, Kong GP. The nasal resistance of newborn infants. *J Pediatr* 1965;67:557-67.
125. McCaffrey TV, Kern EB. Clinical evaluation of nasal obstruction. A study of 1,000 patients. *Arch Otolaryngol.* 1979;105:542-5.
126. Gertner R, Podoshin L, Fradis M. A simple method of measuring the nasal airway in clinical work. *J Laryngol Otol.* 1984;98:351-5.
127. Siegel NS, Gliklich RE, Taghizadeh F, Chang Y. Outcomes of septoplasty. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2000; 122:228-32.
128. Yaniv E, Hadar T, Shvero J, Raveh E: Objective and subjective nasal airflow. *Am J Otolaryngol.* 1997;18:29-32.
129. Mertz JS, McCaffrey TV, Kern EB. Objective evaluation of anterior septal surgical reconstruction. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 1984;92:308-11.
130. Wellbrock M, Mertens J, Cornelius M, Brasch J. Intranasal provocation with lysine acetylsalicylic acid. *HNO.* 1993;41:577-81.
131. Jones AS, Lancer JM, Moor AA, Stevens Jc. Effect of aspirin on nasal resistance to airflow. *Br Medical J.* 1985;20:1171-3.
132. Asad SI, Kemeny DM, Youlten LJF, Frankland AW, Lessof MH. Effect of aspirin in "aspirin sensitive" patients. *Br Med.* 1984;288:745-8.
133. Bedwani JR, Eccles R, Jones AS. Effects of prostaglandins E₂, I₂ and D₂ on pig 14 nasal vasculature. *Clin Otolaryngol.* 1983;8:337-41.
134. Anggard A. The effect of prostaglandins on nasal airway resistance in man. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1969;78:657-62.
135. Mackay I, Cole P. Rhinitis, Sinusitis and Associated Chest Disease. In: Scott-Brown's Otolaryngology. 5th ed, London: Butterworth; 1987.p.61-92.
136. Meltzer EO. Evaluating rhinitis: clinical, rhinomanometric, and cytologic assessments. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1988;82:900-8.
137. Jankowski R, Persoons M, Foliguet B, Coffinet L, Thomas C, Verient-Montaut B. Eosinophil count in nasal secretions of subjects with and without nasal symptoms. *Rhinology.* 2000;38:23-32.

138. Modrzyński M, Mazurek H, Zawisza E. Nasal provocation test with lysine-aspirin in diagnosis of nonallergic rhinitis with eosinophilia. *Otolaryngol Pol.* 2006;60:25-31.
139. Bachert C, Wagenmann M, Rudack C, et al. The role of cytokines in infectious sinusitis and nasal polyposis. *Allergy.* 1998;53:2-13.
140. Hamilos DL, Leung DY, Wood R, Cunningham L, Bean DK, Yasruel Z, Schotman E, Hamid Q. Evidence for distinct cytokine expression in allergic versus nonallergic chronic sinusitis. *J Allergy Clin Immunol* 1995;96:537-44.
141. Lee CH, Rhee C-S, Min Y-G. Cytokine expression in nasal polyps. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 1998;107:665-70.
142. Hebestreit H, Yousefi S, Balatti I, Weber M, Cramer R, Simon D, Hartung K, Schapowal A, Blaser K, Simon HU. Expression and function of the FAS receptor on human blood and tissue eosinophils. *Eur J Immunol.* 1996;26:1775-80.
143. Fang SY, Yang BC. Overexpression of FAS-ligand in human nasal polyps. *Ann Otol Rhinol Laryngol.* 2000;109:267-70.
144. Kowalski ML, Pawliczak R, Wozniak J, Siuda K, Poniatowska M, Iwaszkiewicz J, Kornatowski T, Kaliner MA. Differential metabolism of arachidonic acid in nasal polyp epithelial cells cultured from aspirin-sensitive and aspirin-tolerant patients. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;161:391-98.
145. Stevenson DD, Hankammer MA, Mathison DA, Christiansen SC, Simon RA. Aspirin desensitization/treatment of aspirin sensitive rhinosinusitic-asthmatic patients: long term outcomes. *J Allergy Clin Immunol.* 1996;98:751-58.
146. Juergens UR, Christiansen SC, Stevenson DD, Zuraw BL. Inhibition of monocyte leukotriene B4 production following aspirin desensitization. *J Allergy Clin Immunol.* 1995;96:148-56.
147. Woessner KM, Simon RA, and Stevenson DD. Safety of high-dose rofecoxib in patients with aspirin-exacerbated respiratory disease. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2004;93:339-44.

148. Stevenson DD. Aspirin and NSAID sensitivity. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2004;24:491-505.
149. Gyllfors P, Bochenek G, Overholt J, Drupka D, Kumlin M, Sheller J, Nizankowska E, Isakson PC, Mejza F, Lefkowitz JB, Dahlén SE, Szczeklik A, Murray JJ, Dahlén B. Biochemical and clinical evidence that aspirin-intolerant asthmatic subjects tolerate the cyclooxygenase 2-selective analgesic drug celecoxib. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;111:1116-21.
150. Wasiak W, and Szmidt M. A six week double blind, placebo controlled, crossover study of the effect of misoprostol in the treatment of aspirin sensitive asthma. *Thorax.* 1999;54:900-4.
151. Cowburn AS, Sladek K, Soja J, Adamek L, Nizankowska E, Szczeklik A, Lam BK, Penrose JF, Austen FK, Holgate ST, Sampson AP. Overexpression of leukotriene C4 synthase in bronchial biopsies from patients with aspirin-intolerant asthma. *J Clin Invest.* 1998;101:834-46.
152. Dahlén SE, Malmström K, Nizankowska E, Dahlén B, Kuna P, Kowalski M, Lumry WR, Picado C, Stevenson DD, Bousquet J, Pauwels R, Holgate ST, Shahane A, Zhang J, Reiss TF, Szczeklik A. Improvement of aspirin-intolerant asthma by montelukast, a leukotriene antagonist: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;165:9-14.
153. Daffern PJ, Muilenburg D, Hugli TE, Stevenson DD. Association of urinary leukotriene E4 excretion during aspirin challenges with severity of respiratory responses. *J Allergy Clin Immunol.* 1999;103:559-64.
154. Martin JG, Suzuki M, Maghni K, Pantano R, Ramos-Barbón D, Ihaku D, Nantel F, Denis D, Hamid Q, Powell WS. The immunomodulatory actions of prostaglandin E2 on allergic airway responses in the rat. *J Immunol.* 2002;169:3963-69.
155. Pierzchalska M, Szabó Z, Sanak M, Soja J, Szczeklik A. Deficient prostaglandin E2 production by bronchial fibroblasts of asthmatic patients, with special reference to aspirin-induced asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;111:1041-48.

156. Cho SH, Stanciu LA, Holgate ST, Johnston SL: Increased interleukin-4, interleukin-5, and interferon-gamma in airway CD4⁺ and CD8⁺ T cells in atopic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:224-30.
157. Lack G, Bradley KL, Hamelmann E, Renz H, Loader J, Leung DY, Larsen G, Gelfand EW: Nebulized IFN- γ inhibits the development of secondary allergic responses in mice. *J Immunol*. 1996;157:1432-39.
158. Jung T, Lack G, Schauer U, Uberuck W, Renz H, Gelfand EW, Rieger CH. Decreased frequency of interferon- γ and interleukin-2-producing cells in patients with atopic diseases measured at the single cell level. *J Allergy Clin Immunol*. 1995;96:515-27.
159. Maggi E, Parronchi P, Manetti R, Simonelli C, Piccinni MP, Ruggi FS, De Carli M, Ricci M, Romagnani S: Reciprocal regulatory effects of IFN-gamma and IL-4 on the in vitro development of Th1 and Th2 clones. *J Immunol*. 1992;148:2142-47.
160. Naito Y, Endo H, Arai KI, Coffman RL, Arai N. Signal transduction in Th clones: target of differential modulation by PGE₂ may reside downstream of the PKC-dependent pathway. *Cytokine*. 1996;8:346-56.
161. Parker CW, Huber MG, Godt SM. Modulation of IL-4 production in murine spleen cells by prostaglandins. *Cell Immunol*. 1995;160:278-85.
162. Betz M, Fox BS. Prostaglandin E₂ inhibits production of Th1 but not Th2 lymphokines. *J Immunol*. 1991;146:108-13.
163. Katamura K, Shintaku N, Yamauchi Y, Fukui T, Ohshima Y, Mayumi M, Furusho K. Prostaglandin E₂ at priming of naïve CD4⁺ T cells inhibits acquisition of ability to produce IFN- γ and IL-2, but not IL-4 and IL-5. *J Immunol*. 1995;155:4604-12.
164. Pietruszewska W, Olejniczak I, Durko T, Młynarski W. Role of IFN- γ and TNF- α in etiology of nasal polyps--initial studies. *Otolaryngol Pol*. 2008;62:54-8.
165. Cianferoni A, Schroeder JT, Kim J, Schmidt JW, Lichtenstein LM, Georas SN, Casolaro V. Selective inhibition of interleukin-4 gene expression in human T cells by aspirin. *Blood*. 2001;15:1742-9.

166. Abdulmir AS, Hafidh RR, Abubakar F, Abbas KA. Changing survival, memory cell compartment, and T-helper balance of lymphocytes between severe and mild asthma. *BMC Immunology*. 2008;9:73-83.
167. Bernstein JM, Ballow M, Rich G, Allen C, Swanson M, Dmochowski J. Lymphocyte subpopulations and cytokines in nasal polyps: is there a local immune system in the nasal polyp? *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2004;130:526-35.
168. Taylor ML, Stewart GA, Thompson PJ. The effect of aspirin on mononuclear cells in aspirin-sensitive asthmatics and control subjects. *Int Arch Allergy Immunol*. 1993;100:156-63.
169. Suh YJ, Yoon SH, Sampson AP, Kim HJ, Kim SH, Nahm DH, Suh CH, Park HS. Specific immunoglobulin E for staphylococcal enterotoxins in nasal polyps from patients with aspirin-tolerant asthma. *Clin Exp Allergy* 2004; 34: 1270-75.