



T.C.
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**ASTIMLI ÇOCUKLARDA SERUM ANGIOPOİETİN-1,
ANGİOPOİETİN-2, VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH
FACTOR VE TUMOR NECROSIS FACTOR- α DÜZEYLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Uzm. Dr. Burcu T. KÖKSAL

**ÇOCUK ALLERJİ ve İMMÜNOLOJİSİ
YAN DAL UZMANLIK TEZİ**

ANKARA
2012



T.C.
BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**ASTIMLI ÇOCUKLARDA SERUM ANGIOPOİETİN-1,
ANGİOPOİETİN-2, VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR
VE TUMOR NECROSIS FACTOR- α DÜZEYLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Uzm. Dr. Burcu T. KÖKSAL

ÇOCUK ALLERJİ ve İMMÜNOLOJİSİ
YAN DAL UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Özlem Yılmaz ÖZBEK

ANKARA
2012

TEŞEKKÜR

Başkent Üniversitesi Tıp Fakóltesi Pediatrik Alerji yan dalına baŐladıđımdan itibaren benden desteğini esirgemeyen Ana Bilim dalı baŐkanımız Prof. Dr. Namık Özbek'e, yan dal eğitimim ve tez çalıŐmam süresince bilgi, tecrübe, destek ve anlayıŐını esirgemeyen hocam ve tez danıŐmanım Doç. Dr. Özlem Özbek'e, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nın tüm öğretim üye ve asistanlarına, tezin istatistik analizlerinin yapılması ve değerlendirilmesinde yardımcı olan Doç. Dr. AyŐe Canan Yazıcı'ya ve tezin biyokimyasal analizlerinin çalıŐılmasında yardımcı olan Yrd. Doç. Dr. Nilüfer Bayraktar'a teŐekkürlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

ABIN	A20-binding inhibitor of nuclear factor (NF)-kB
Ang	Angiopoietin
EASIA	Enzyme Amplified Sensitivity Immunoassay
ELISA	Enzyme Linked Imunosorbent Assay
FEF	Forced Expiratory Flow (zorlu ekspiratuvar akım)
FEV ₁	Forced expiratory volume in 1 second (1. saniyedeki zorlu ekspirium hacmi)
FGF	Fibroblast growth factor (fibroblast büyüme faktörü)
FKHR	Forkhead transcription factor
FVC	Forced vital capacity (Zorlu vital kapasite)
GINA	Global Initiative for Asthma (Uluslararası Astım Tanı ve Tedavi Rehberi)
GM-CSF	Granülosit monosit koloni stimüle eden faktör
HIF	Hipoxia inducing factor
ICAM	Intercellular adhesion molecule
IgE	İmmünglobulin E
İKS	İnhale kortikosteroid
IL	İnterlökin
IFN	İnterferon
ISAAC	International Study of Asthma and Allergies in Childhood
LABA	Long acting β -2 agonist (uzun etkili β -2 agonist)
LTRA	Lökotrien reseptör agonist
MAPK	Mitojen activated protein kinase
MHC	Major histocompatibility complex
mRNA	Messenger ribonükleik asit
NFKB	Nükleer Faktör Kappa B
NK	Natural Killer (doğal öldürücü hücre)
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
PEF	Peak expiratory flow (Ekspiratuvar zirve akım hızı)

PEFmetre	Peakflowmetre
PG	Protaglandin
PKB	Protein kinaz B
RSV	Respiratuar sinsityal virus
TGF- β	Transforming growth factor- β
Th	T helper (yardımcı T hücre)
Tie	Tyrosine kinase with immunoglobulin-like & EGF-like domains
TNF- α	Tumor necrosis factor- α
VCAM	Vascular cell adhesion molecule
VEGF	Vascular endothelial growth factor (Vasküler endotelyal büyüme faktörü)

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
2.1. Normal ve astımlı bireylerde bronşun görünümü	3
2.2. Alerjik astımdaki inflamatuvar kaskadın şematik sunumu	5
2.3. B hücre ile T hücrenin etkileşimi ve IgE sentezi	7
2.4. Astımda hava akımını kısıtlayan faktörler, hava yolundaki inflamatuvar yanıt ve hava yolunun yeniden yapılanması	8
2.5. Epitel hasarı, subepitelyal fibrozis, peribronşial düz kas hiperplazisi, goblet hücre hipertrofisi ve anjiogenezin şematize edildiği remodelling	9
2.6. Astım kontrol durumuna göre basamak arttırıp azaltılması	20
2.7. Endotel-perisit ilişkisi	22
2.8. Angiopoietin-1 ve Ang-2 ile Tie-2 reseptör etkileşimi ve damar denge durumunun düzenlenmesi	25
2.9. Angiopoietin-1'in perisitlerden, Ang-2'nin endotel hücrelerinden salınımı ve Tie-2 reseptör üzerine etkileri	26
2.10. Angiopoietin-1, Ang-2, TNF- α 'nın inflamasyon ve anjiogenezde koordine çalışması, ilgili reseptör ve yolaklar üzerine etkileri	28
4.1. Astım ve kontrol grubunun serum Ang-1 düzeylerinin karşılaştırılması	38
4.2. Astım ve kontrol grubunun serum Ang-1/Ang-2 oranlarının karşılaştırılması	39
4.3. Astım ve kontrol grubunun serum Ang-2 düzeylerinin karşılaştırılması	39
4.4. Astım ve kontrol grubunun serum VEGF ve TNF- α düzeylerinin karşılaştırılması	41
4.5. Astım grubunda serum VEGF ve Ang-2 ilişkisi	41
4.6. Astımlı çocuklarda serum Ang-2'nin tanı yaşı ile ilişkisi	42
4.7. Astımlı çocuklarda serum VEGF ve VEGF/Ang-2 oranı ile hastalık süresi ilişkisi	43
4.8. Astımlı çocuklarda serum TNF- α 'nın FVC ve FEV ₁ ile ilişkisi	43

4.9.	Kontrol grubundaki erkeklerde yaş ile serum Ang-1 ilişkisi	45
4.10.	Kızlarda serum Ang-1 düzeyinin gruplara göre dağılımı	45

TABLULAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
2.1. Astım şiddetinin değerlendirilmesi	15
2.2. Çocuklarda astım kontrolünün değerlendirilmesi	17
2.3. 0-4, 5-11 ve >12 yaş çocuklarda basamak tedavi yaklaşımı	19
4.1. Astım ve kontrol grubundaki çocukların karşılaştırılması	36
4.2. Astımlı çocukların demografik özellikleri ve SFT parametreleri	37
4.3. Astım grubundaki çocukların serum Ang-1, Ang-2, VEGF ve TNF- α düzeyleri, Ang-1/Ang-2, VEGF/Ang-2 oranlarının kontrol grubuyla karşılaştırılması	40
4.4. Astım ve kontrol grubundaki çocukların serum Ang-1, Ang-2, VEGF ve TNF- α düzeyleri, Ang-1/Ang-2, VEGF/Ang-2 oranlarının cinsiyetlere göre dağılımı	44
4.5. Atopisi olan ve atopisi olmayan astımlı çocukların serum Ang-1, Ang-2, VEGF ve TNF- α düzeyleri, Ang-1/Ang-2, VEGF/Ang-2 oranlarının dağılımı	46

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Astım tanım	2
2.2. Epidemiyoloji	2
2.3. Patofizyoloji	3
2.4. Patogenez	4
2.5. Remodelling	9
2.6. Risk faktörleri	10
2.7. Tanı	11
2.8. Fizik inceleme	12
2.9. Astım tanı ve takibi için gerekli olan testler	12
2.9.1. Solunum fonksiyonlarının ölçümü	12
2.9.2. Atopinin değerlendirilmesi	14
2.10. Astım şiddetinin sınıflaması	15
2.11. Astım kontrolü	16
2.12. Astım tedavisi	16
2.13. İnflamasyon ve anjiogenez	21
2.14. Angiopoietin 1 ve 2	24
2.15. Vascular endothelial growth factor	29
2.16. Tumor nekrosis faktör- α	31
3. HASTALAR ve YÖNTEM	33
4. BULGULAR	36

5. TARTIŞMA	47
6. SONUÇLAR	56
7. KAYNAKLAR	58

1. GİRİŞ

Astım hava yollarının kronik inflamasyonu ile seyreden sık görülen bir akciğer hastalığıdır. Hava yolunun yapısal ve inflamatuvar hücrelerinin katıldığı bu kronik inflamasyon ile hava yolu daralması ve bronş aşırı duyarlılığı astımın temel özelliklerini oluşturmaktadır.

Hastalığın seyri sırasında hava yollarında inflamatuvar yanıtı ek olarak, hava yolunun yeniden yapılanması (*remodelling*) olarak adlandırılan karakteristik yapısal değişiklikler de olmaktadır. Dokudaki remodellingin önemli kısmından anjiogenez ve mikrovasküler remodelling sorumludur. Remodelling astımın başlıca fizyolojik özelliği olan hava yolu aşırı duyarlılığı ve hava yolu daralması ile ilişkilidir.

Angiopietinler anjiogenezde rol alır ve inflamatuvar yanıtı da düzenler. Angiopietin (Ang) -1 damar yapısının ve fonksiyonlarının korunmasıyla birlikte antiapoptotik ve anti-inflamatuvar özelliklere sahiptir. Angiopietin-2 ise Ang-1'in bu fonksiyonlarını inhibe eder, inflamatuvar yanıtı artırır ve vasküler stabilizasyonu bozar. Endotel hücre proliferasyonu ve anjiogenezini uyaran Vascular endothelial growth factor (VEGF)'in fonksiyonları Ang-1 ve Ang-2 tarafından düzenlenir. Tumor necrosis factor (TNF)- α ve VEGF Ang-2'nin aşırı salınımına neden olurken Ang-1'in etkisine ters yönde etki eder.

Bu çalışmanın amacı astımlı çocuklarda inflamasyon, anjiogenez ve remodellingde önemli rolleri olan serum Ang-1, Ang-2, VEGF ve TNF- α düzeylerinin değerlendirilmesi, ayrıca hastaların demografik özellikleri ve solunum fonksiyonlarıyla arasındaki ilişkilerin belirlenmesidir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Astım Tanım

Astım havayollarının kronik inflamasyonu ile seyreden sık görülen bir akciğer hastalığıdır. Astım klinik, fizyolojik ve patolojik özelliklerine göre tanımlanan bir hastalık olmakla birlikte başlıca fizyolojik özelliği hava akımı kısıtlanması ile karakterize hava yolu daralmasıdır. En belirgin patolojik bulgu ise bazı olgularda kalıcı yapısal değişikliklerin de eşlik ettiği kronik hava yolu inflamasyonudur. Sabaha karşı ve gece olan nöbetler halinde gelen tekrarlayıcı nefes darlığı, göğüste sıkışma hissi, hışıltılı solunum ve öksürük önemli klinik özellikleridir. Bu ataklar kendiliğinden veya tedavi ile geri dönüşlü, değişken bir hava yolu daralması ile birlikte (1).

Hava yolunun yapısal ve inflamatuvar hücrelerinin katıldığı bu kronik inflamasyon ile hava yolu daralması ve bronş aşırı duyarlılığı astımın temel özelliklerini oluşturmaktadır (2,3).

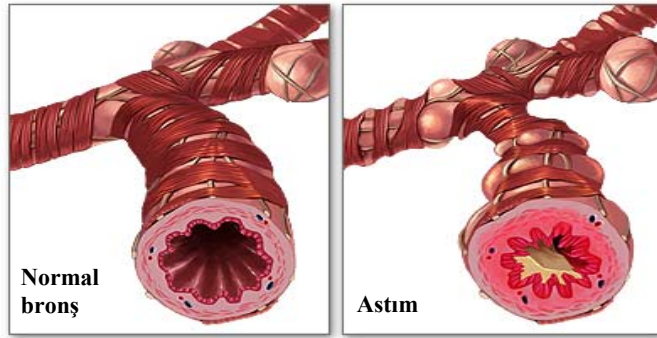
2.2. Epidemiyoloji

Astım tüm dünyada önemli bir sağlık sorunudur. Hastalığın dağılımı ülkeler arasında ve ülke içinde bölgeler arasında farklılıklar göstermektedir. Astımın dünyada yaklaşık 300 milyon kişiyi etkilediği düşünülmektedir (4-6). Prevelans tahminleri çocuklarda %3-38, erişkinlerde %2-12 arasındadır (7,8). Türkiye’de Türkteş ve arkadaşlarının çalışmasında yaşam boyu astım prevalansı %14.7, Saraçlar ve arkadaşlarının çalışmasında doktor tanılı astım %6.9 olarak saptanmıştır, erişkinlerde astım prevalansı %2-11’dir (5,6,9-12).

Farklı ülkelerde son 30 yılda yapılan araştırmalar astım prevalansında artış olduğunu göstermekte iken yakın dönemdeki araştırmalar bu artışın durduğunu, kimi yerlerde tersine döndüğünü göstermiştir (13-15). Türkiye’de çocukluk çağında 1992-2004 yılları arasında, yayımlanmış bir meta-analizde hışıltılı semptomunda yıllar içinde artış eğilimi olduğu görülmüştür (9,12,16).

2.3. Patofizyoloji:

Hava yollarındaki çoğu bronkokonstriktör mediatör ve nörotransmitterin neden olduğu düz kas kontraksiyonu, inflamatuvar mediatörlere yanıt olarak gelişen mikrovasküler kaçak sonucu hava yolunda ödemin gelişmesi, yeniden yapılanmaya bağlı duvar kalınlaşması, mukus sekresyonu artışı ve bunun oluşturduğu tıkaçlar hava yolu daralmasına neden olmaktadır. Normal bronş ve astımlı bronş Şekil 2.1’de görülmektedir.



Şekil 2.1. Normal ve astımlı bireyde bronşun görünümü.

Hava yolu aşırı duyarlılığı; bronşun spesifik (alerjen) veya nonspesifik (kimyasal veya fiziksel) bir uyarana maruz kaldığında kolaylıkla ve aşırı daralma ile yanıt verme durumudur. Astımlı kişilerin bronşu bronkokonstriktör bir maddeye normal bireylere göre daha düşük dozlarda ve daha fazla daralma ile yanıt vermektedir. Bu daralma değişken hava akımı kısıtlanmasına ve semptomlara neden olur. Hava yollarındaki bu aşırı duyarlılık hem inflamasyon hem de hasar sonrası hava yollarının onarımı ile ilişkilidir ve tedavi ile kısmen geri dönebilir. Mekanizmalar henüz tam olarak anlaşılmiş değildir ancak bazı hipotezler öne sürülmüştür. Bunlar:

- Hava yolu düz kas hücrelerinin hacim ve/veya kontraktilesinin artması sonucu hava yolu düz kasının aşırı kontraksiyonu,
- Ödem ve yapısal değişikliklerle ortaya çıkan hava yolu duvarı kalınlaşmasının geometrik nedenlerle ortaya çıkan hava yolu düz kası kontraksiyonuna bağlı gelişen hava yolu daralmasını daha da arttırması,

- Hava yolu duvarında inflamatuvar değişiklikler olması nedeniyle bronkokonstriktör maddeler inhale edildiğinde hava yollarının aşırı daralması ve normal hava yollarının maksimum daralma platosunda kayıp ile sonuçlanması,
- İnflamasyonla duyarlı hale gelen duyuşal sinirlerin uyarılara yanıt olarak aşırı bronş daralmasına neden olmasıdır (17,18).

2.4. Patogenez

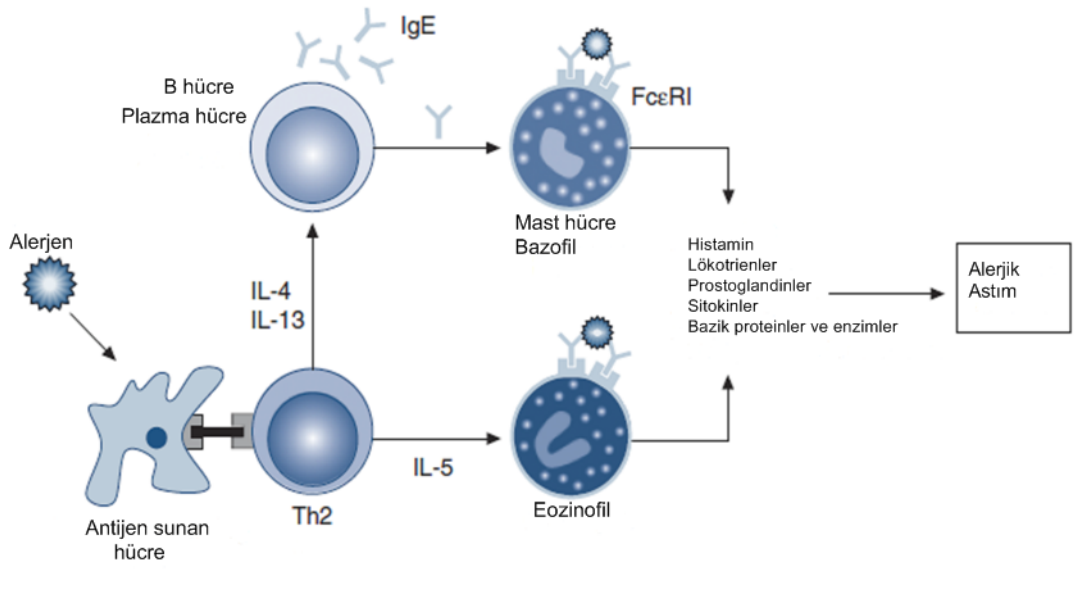
Astım; birçok inflamatuvar hücre ve mediatörün rol aldığı hava yollarının inflamatuvar bir hastalığıdır ve karakteristik patofizyolojik değişikliklerle sonuçlanmaktadır (19). Astım oluşumunda genetik ve çevresel faktörlerin birlikte rol aldıkları bilinmesine karşın etiopatogenezi henüz tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Alerjik hastalıklar İmmünglobulin E (IgE) aracılı mast hücre mediatörlerinin salınması ve aktive eozinofiller ile özellikle Th2 sitokin profili sergileyen T lenfosit infiltrasyonu ile karakterizedir. Bu hücre ve sitokinlerin alerjik inflamasyonun düzenlenmesinde önemli rolleri vardır.

İnflamasyon çoğu hastada burun da dahil olmak üzere üst solunum yolunu içerecek şekilde tüm hava yolunu etkilese de fizyolojik etkileri orta çaplı bronşlarda en belirgindir. Hücresel dağılımda farklılık gözlenebilirse de hava yolu inflamasyonu her zaman var olan özelliktir. Semptomlar epizodik olsa da astımdaki hava yolu inflamasyonu her zaman mevcuttur. Astım ciddiyeti ve inflamasyon şiddeti ilişkisi henüz net olarak ortaya konmuş değildir (2,20).

Hava yolu duvarındaki hem yapısal hücreler hem de inflamatuvar hücreler astım patogeneziye katkıda bulunmaktadır. Mast hücreleri, eozinofiller, T lenfositler, dendritik hücreler, makrofajlar ve nötrofiller inflamasyonda rol alan inflamatuvar hücrelerdir. Hava yolundaki mast hücrelerin aktive olmasıyla histamin ve lökotrienler gibi inflamasyon mediatörleri ve T hücrelerin aktive olmasıyla İnterlökin (IL) -4, IL-5, IL-9 ve IL-13 gibi sitokinlerin üretimi uyarılır.

Hava yolu yüzeyinde dentritik hücreler alerjen ile temasa geçer (Şekil 2.2). Antijen sunan hücreler olan bu dentritik hücreler ile bağlanan alerjen hücre içine alınır ve sonrasında bölgesel lenf nodlarına ulaşırlar. Antijen işlenerek T hücrelere sunulur (Şekil 2.2). T hücre, kendisine Major histocompatibility

complex (MHC) *Class II* molekülü ile birlikte sunulmuş olan alerjeni T hücre reseptörü ile tanır (21). Bu etkileşim sonrası Th0 hücreler IL-2 sentezleyerek aktifleşir. Dentritik hücrelerin IL-12 *üretme* kapasitesi T hepler (Th) -1 ve Th2 yanıt dengesini belirler. Ortamda IL-12 varsa T hücrenin Th1 yönünde değişimine neden olur. IL-4 varlığında Th2 tipi sitokin salgılayacak bir yapıya dönüşür. Th2 hücre alerjene karşı duyarlanır ve o alerjene özgül immün yanıt gelişir. T ve B hücre arasında etkileşim olur. Duyarlanan ve Th2 hücre haline gelen T hücre kemokinlerin etkisiyle hava yollarına göç eder. İnterlökin-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-13 ve Granülosit monosit koloni stimüle eden faktör (GM-CSF) gibi sitokinleri üreten en etkili hücreler haline gelirler. Bu sitokinler allerjik inflamasyonda önemli rol alacak mast hücre, eozinofil, makrofaj, epitel hücresi gibi hücreleri aktive ederek inflamatuvar sürecin devamını sağlar.



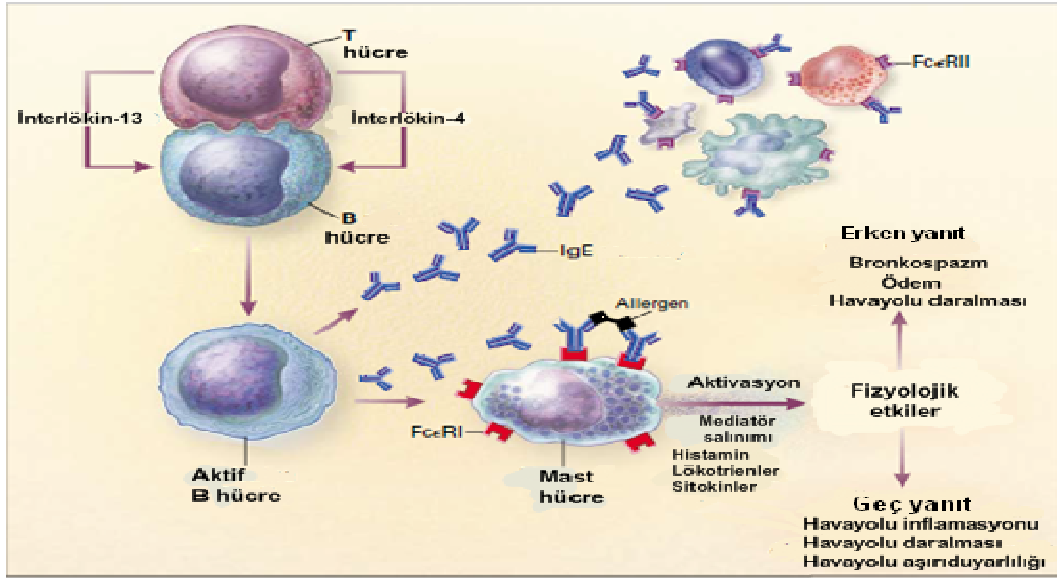
Şekil 2.2. Alerjik astımdaki inflamatuvar kaskadın şematik sunumu.

T ve B hücre arasında etkileşim olması sonucu B hücrelerde IgE yapısındaki antikorun yapımı uyarılır. IgE sentezinin gerçekleşmesi için iki sinyale ihtiyaç vardır. Birincisi IL-4 ve IL-13'ün B hücre reseptörlerine bağlanması, ikincisi ise B hücre üzerindeki CD40'ın T hücre üzerindeki CD40 liganda bağlanmasıdır. Oluşan IgE antikorları dokudaki mast hücre veya kandaki bazofillerin yüksek afiniteli IgE reseptörlerine (FcεRI) ve lenfosit,

eozinofil, trombosit ve makrofajların düşük afiniteli reseptörlerine (FcεRII veya CD23) bağlanır (Şekil 2.3). Mast hücre FcεRI'e bağlı IgE ile alerjenin yeniden etkileşimi sonucu FcεRI reseptörlerinde moleküler köprüleşme olur, böylece hücrenin aktivasyonuna ve daha önceden üretilmiş olan histamin gibi mediatörlerin salınmasına ve araşidonik asit metabolitlerin sentezinin başlamasına neden olur. Histamin, lökotrienler ve prostoglandin-D2 (PGD2) mukosilier fonksiyon bozukluğu, damar geçirgenliğinde artış, ödem, mukus sekresyon artışı ve düz kas kontraksiyonuna neden olurlar. Bu erken faz reaksiyonu havayolu daralması ve akut astım semptomları ile sonuçlanır ve genellikle bir saat içinde düzelir (20,22). Yaklaşık 6-8 saat sonrasında ise hava yollarının inflamasyonu, daralmasıyla sonuçlanan inflamatuvar hücreler tarafından salınan sitokin ve kemokinlere bağlı geç faz reaksiyon gelişir. Başta T lenfosit ve eozinofiller olmak üzere ortama lenfosit, nötrofil ve bazofili içeren hücre göçünün olması ve inflamasyon ile karakterizedir. Mast hücreleri sadece erken faz yanıtında değil geç faz yanıtında da önemli rol alan mediatör ve sitokinler sentezleyerek, IgE yapımı, endotel ve eozinofil üzerinde etkili olur (Şekil 2.3) (23). Geç faz reaksiyon sonucunda hava yolu epitelinde hasarlanma, düz kas hipertrofisi, bazal membranda kalınlaşma ve ekstraselüler matriks yapısında değişiklikler olmaktadır. Mediatör ve sitokinlerin etkileşimi ile hava yolu yapısal özellikleri değişir. Kolinerjik ve duyuşal liflerin uyarılması sonucu düz kas kontraksiyonu, mast hücre degranülasyonu ile vazodilatasyon, mukus sekresyon artışı ve vasküler sızıntı gelişir.

Eozinofiller alerjik astım inflamasyonunda önde gelen hücrelerdendir. Geç faz reaksiyonda T hücre, mast hücre ve aktif epitel hücresinden salınan IL-3, IL-5 ve GM-CSF kemik iliğinde eozinofil farklılaşmasına, çoğalmasına ve dolaşıma geçmesine neden olur. Eozinofil farklılaşmasındaki en önemli sitokinlerden olan IL-5 eozinofillerin olgunlaşmasını ve yaşam sürelerinin uzamasını sağlar. Hava yolunun alerjenle karşılaşması ile IL-5 lokal olarak artar ve bu durum hava yolu eozinofilisi ile direk ilişkilidir (24). Kan dolaşımına geçen eozinofiller alerjik inflamatuvar yanıtta yer almak üzere akciğere göç ederler. Eozinofil göçü eozinofil yüzeyindeki P-selektin aracılığı ile hücrenin endotele tutunup yuvarlanmasıyla başlar. İntegrinlerin, vascular cell adhesion molecule

(VCAM) -1 ve intercellular adhesion molecule (ICAM) -1 gibi adezyon molekülleri ile etkileşimi sonucu endotele bağlanır. RANTES, makrofaj inflamasyon proteini ve eotaksin gibi kemokinler eozinofillerin endotelden havayoluna geçişinde önemlidir. Eozinofiller epitel hücrelerde hasara yol açabilecek bazı proteinleri salgılamaktadır. Bu hücreler inflamatuvar enzimleri içerirler, lökotrien ve çok sayıda pro-inflamatuvar sitokin üretirler. Eozinofiller ekstrasellüler matriks yıkımına neden olan matriks metalloproteazlarını da sentezlerler. Aynı zamanda büyüme faktörlerinin salgılanmasında ve hava yolu remodellinginde rol alırlar (25-27).

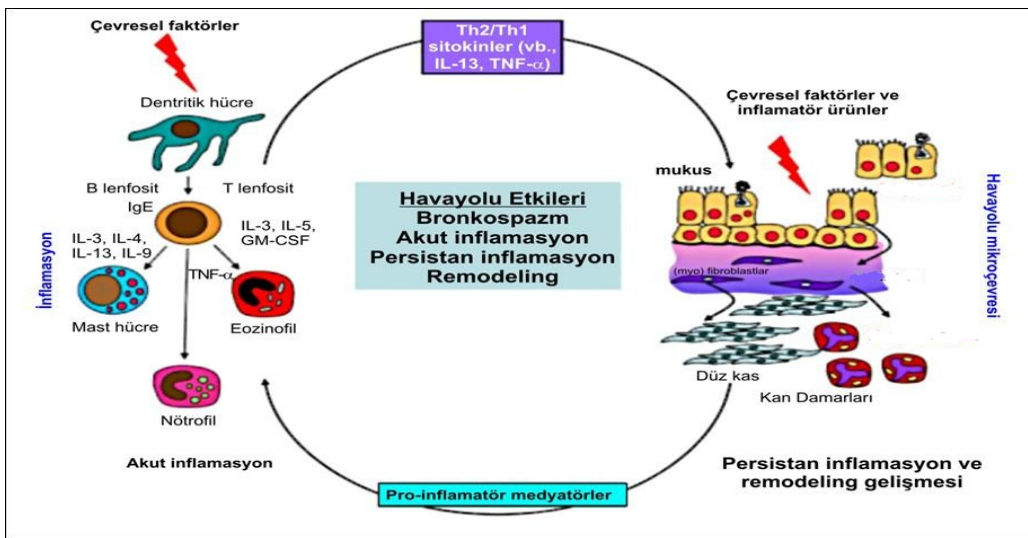


Şekil. 2.3. B hücre ile T hücrenin etkileşimi ve IgE sentezi.

Hava yolu duvarındaki yapısal hücreler de inflamatuvar hücreler gibi astım patogeneziye katkıda bulunmaktadır. Hava yolu epitel hücreleri, düz kas, endotel hücreleri, fibroblastlar, miyofibroblastlar ve hava yolu sinirleri inflamasyonda ve patogeneziye rol alan yapısal hücrelerdir (28-31). Hava yolu epiteli ve düz kas hücreleri mekanik çevreden etkilenerek birçok inflamatuvar protein, sitokin, kemokin ve lipid medyatörleri salgırlar. Bronşial dolaşımdaki endotel hücreleri inflamatuvar hücrelerin dolaşımdan hava yoluna geçişinde rol oynarlar. Fibroblastlar ve myofibroblastlar ise remodellingdeki kollajen ve proteoglikanlar gibi bağ doku bileşenlerini üretirler.

Astımla ilişkili çok sayıda mediatörün de hava yollarındaki karmaşık inflamasyonun yönetilmesinde ve patogeneizde rolü vardır. Bunlar kemokinler, sisteinil lökotrienler, IL-1 β , Tumor necrosis factor (TNF) - α , GM-CSF, IL-4, IL-5 ve IL-13'ü içeren sitokinler, histamin, nitrik oksit (NO) ve PGD2'dir (Şekil 2.2, Şekil 2.4) (32-34). Astımdaki inflamasyonda anahtar sitokinler olan IL-1 β ve TNF- α inflamatuvar yanıtı artırır. Granülosit monosit koloni stimüle eden faktör hava yollarında eozinofil yaşam süresini artırır. Sistenil lökotrienler başlıca mast hücelerinden salgılanan potent bronkokonstriktörlerdir. Nitrik oksit hava yolu epitel hücreleri tarafından üretilir ve potent bir vazodilatördür.

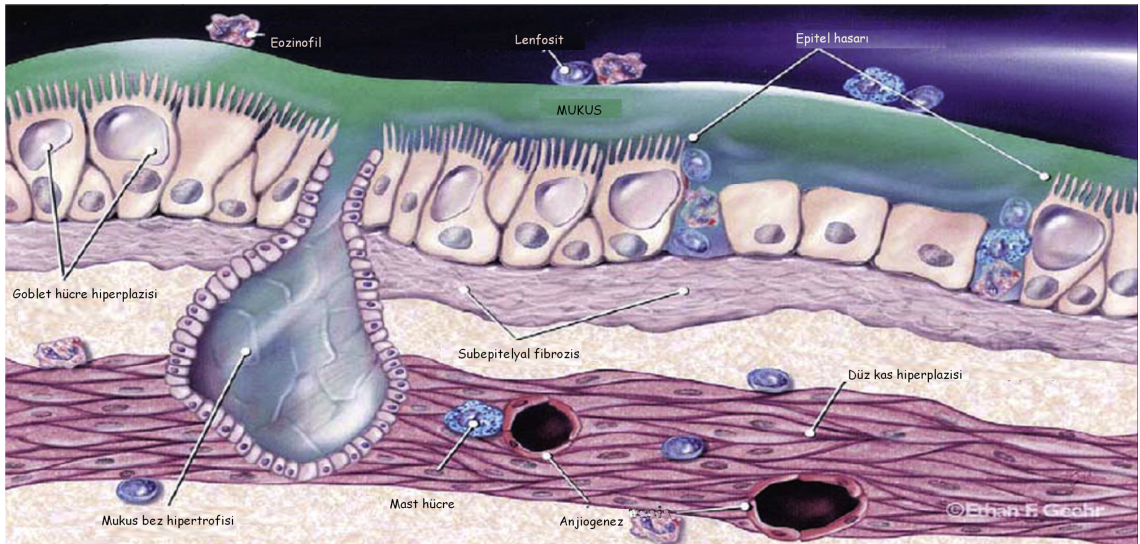
Hava yolu epitel hücrelerinin hasarlanması ve koruyucu bariyer görevini kaybetmesiyle birlikte bronş duvarı yapıları çevresel antijenlere ve alerjenlere açık hale gelir. Bu durum hem inflamatuvar hem de yapısal hücrelerin çeşitli sitokin ve büyüme faktörleri salgılamalarına neden olur. Sonuç olarak astımlıların hava yollarında inflamatuvar yanıtı ek olarak, hava yolu yeniden yapılanması (remodelling) olarak adlandırılan karakteristik değişiklikler olur (35,36). Astımda yeniden yapılanma diğer faktörlerle birlikte hava akımının daha da kısıtlanmasına neden olmaktadır (Şekil 2.4). Bu değişikliklerin bir kısmı astımın şiddeti ile ilişkilidir ve hava yollarında geri döndürülemeyen darlıkla sonuçlanabilir. Çocuklar da dahil olmak üzere tüm astımlı hastalarda gözlenmektedir.



Şekil 2.4. Astımda hava akımını kısıtlayan faktörler, hava yolundaki inflamatuvar yanıt ve hava yolunun yeniden yapılanması.

2.5. Remodelling

Hava yolunun yeniden yapılanması sürecindeki yapısal değişiklikler remodelling olarak adlandırılmaktadır. Astımlı hastalarda hava yolundaki remodelling kompleks multiselüler olayların neden olduğu yapısal değişiklikleri ve kronik inflamasyona yanıt olarak gelişen onarım mekanizmalarını temsil etmektedir. Epitel hasarı, subepitelyal fibrozis, peribronşial düz kas hiperplazisi, goblet hücre hipertrofisi ve hiperplazisi, mukus sekresyonunda artış ile kan damarlarında proliferasyon sonucu oluşmaktadır (Şekil 2.5) (18,37). Hava yolu düz kaslarında hem hipertrofi hem de hiperplazi olmaktadır ve bu durum hava yolu duvar kalınlığı artışına katkıda bulunmaktadır. Bazal membran altında kollajen lifleri ve proteoglikanların birikimine bağlı olarak astımlılarda subepitelyal fibrozis oluşur. Vascular endothelial growth factor (VEGF) gibi büyüme faktörlerinin artışına bağlı olarak kan damarlarında proliferasyon görülür. Goblet hücrelerde artış ve submukozal bezlerde hipertrofiye bağlı olarak mukus sekresyonunda artış olur (Şekil 2.5) (35-39).



Şekil 2.5. Epitel hasarı, subepitelyal fibrozis, peribronşial düz kas hiperplazisi, goblet hücre hipertrofisi, mukus bez hipertrofisi ile anjiogenezin şematize edildiği remodelling.

Remodelling sürekli ve uzun süreli olan inflamasyona bağlanmaktadır (40). Bu değişikliklerin bir kısmı astımın şiddeti ile ilişkilidir, hava yolları aşırı duyarlılığı ve hava yollarında kısmi, geri dönüşlü olmayan darlıkla sonuçlanabilmektedir. Astımlı hastalarda hava yolu remodellinginin patogenezi aydınlatılamamış olsa da klinik sonuçları daha iyi değerlendirilebilmektedir. Hava yolu daralması ve aşırı duyarlılığın tespiti bu açıdan önemlidir (38,39,41,42). Astımda anti-inflamatuar tedavilerin erken kullanılmasının inflamasyonu azaltacağına, bunu takiben remodellingi ve akciğer fonksiyonundaki azalmayı engelleyeceğine inanılmaktadır (41,42).

Çocuklarda hava yolu histopatolojisinde erken değişikliklerin gözlenmesi persistan inflamasyonun remodellinge neden olduğu kararının sorgulanmasına neden olmuştur (43). Epitel hasarı, retiküler bazal membran kalınlaşması ve anjogenez gibi histolojik olarak remodellingin var olabileceğine ait ipuçları en erken 4 yaşındaki astımlı çocuklarda fark edilmektedir (44-46). Ancak bir yaşındaki astımlı bebeklerde remodelling gösterilememesi remodellingin hastalığa paralel olarak geliştiğini düşündürmektedir. Kronik inflamasyonla birlikte astım ataklarına bağlı olarak geliştiğini gösteren çalışmalar da vardır (47).

2.6. Risk Faktörleri:

Astımın gelişmesini ve ortaya çıkmasını etkileyen risk faktörleri genetik ve çevre ile ilişkili olup multifaktöriyeldir. Astımın ortaya çıkmasında etkili risk faktörlerinin başında genetik faktörler gelir (48). Astıma yatkınlığın, genlerin hem diğer genlerle, hem de çevresel faktörlerle etkileşimi sonucunda belirlendiği düşünülmektedir. Son veriler astım patogenezinde birçok genin rol aldığını ve farklı etnik gruplarda farklı genlerin etkisi olduğunu göstermektedir (49,50).

Astıma yönelik risk faktörlerinden konak faktörleri:

1. Genetik faktörler

- atopi gelişmesine yatkınlık yaratan genler,

- hava yolu aşırı duyarlılığının gelişmesine yatkınlık yaratan genler,
- sitokin, kemokin ve büyüme faktörleri gibi inflamatuvar medyatörlerin oluşmasında, Th1 ve Th2 arasındaki immünolojik yanıt oranlarının belirlenmesinde rol alan genler,

2. Obezite

3. Cinsiyettir.

Erkek cinsiyet çocukluk dönemi astımı için önemli bir risk faktörüdür. On dört yaşından önceki dönemde astım prevalansı erkek çocuklarda kız çocuklarının yaklaşık 2 katı olarak bulunmuştur (1,51). Yaş ilerledikçe bu fark kapanmakta, yetişkin dönemde astım kadınlarda daha sık görülmektedir (1). Obezlerde astım daha sık görülmektedir ve kontrolü daha güç olmaktadır (52,53).

Çevresel faktörler ise;

1. İç ortam/dış ortam allerjenleri,
2. Beslenme,
3. Sigara dumanı (pasif/aktif içicilik),
4. İç/dış ortam hava kirliliği ve
5. Mesleki duyarlılaştırıcılar,
6. Solunum yolu enfeksiyonlarıdır (özellikle viral).

Viral enfeksiyonlar (örneğin; respiratuvar sinsityal virus (RSV), rinovirüs, parainfluenza ve influenza virüsleri, metapnömovirüs) küçük çocuklardaki vizing epizodları ile ilişkilidir.

2.7. Tanı

Astıma özgü kesin tanı koydurucu bir immünolojik, biyolojik ya da fizyolojik belirteç henüz bulunamamıştır. Bu nedenle astım tanısı hastanın yakınmaları, aile hikayesi, risk faktörleri, laboratuvar bulguları ve tedaviye yanıtının bir bütün olarak değerlendirilmesiyle konur.

Astım tanısında anamnez çok önemlidir. Tanısal testlerin pozitif olması tanıyı desteklemekte ancak negatif olması tanıyı dışlamamaktadır. Tanı,

nöbetler halinde gelen nefes darlığı, hışıltı, öksürük ve göğüste baskı hissi gibi semptomların varlığı ile konabilir (54).

Semptomların gün içinde veya mevsimsel değişkenlik göstermesi, hava kirliliği, duman, çeşitli kokular veya egzersiz gibi nedenlerle tetiklenmesi, geceleri artış olması ve uygun astım tedavilerine yanıt vermesi astım tanısını destekler (55). Ailede astım öyküsünün bulunması ve atopik hastalıkların varlığı tanıyı koymaya yardımcı olan diğer özelliklerdir. Astımlı hastaların çoğunda rinit semptomları da vardır. Bazı duyarlı bireylerde, polen, küf mantarları gibi mevsimsel artış gösteren etkenlerle astım alevlenebilir (56).

2.8. Fizik İnceleme

Hasta semptomatik değilse solunum sistemi muayenesi normal bulunabilir fakat fizik incelemenin normal olması astım tanısını dışlamaz. En sık rastlanan muayene bulgusu hava yolu daralmasını gösteren hışıltı ve ronküslerdir. Solunum sesleri normal bulunan bazı astımlı hastalarda oskültasyon sırasında zorlu ekspirasyon yaptırılırsa ronküs işitilebilir. Ciddi astım ataklarında ileri derecede azalmış ventilasyon ve hava akımı nedeniyle akciğer sesleri azalmıştır. Bu durumdaki hastalarda atağın ciddiyetini gösteren takipne, siyanoz, uykuya meyil, konuşma güçlüğü, taşikardi, yardımcı solunum kaslarının kullanılması, interkostal çekilmeler ve göğüs ön-arka çapının artması gibi diğer fizik inceleme bulguları gözlenir (1,55).

2.9. Astım Tanı ve Takibi İçin Gerekli Olan Testler

2.9.1. Solunum Fonksiyonlarının Ölçümü

Astımın tanı, derecelendirme ve takibinde objektif değerlendirme olanağı sağlayan testlerdir. Solunum fonksiyonlarında;

- Hava yolunda daralma olması ve bunun değişken olması (zaman içinde düzelme ve/veya kötüleşme gösterebilmesi),
- Hava yolu obstrüksiyonunun geri dönüşümlü olması ve

- Bronş aşırı duyarlılığının olması gibi astım için tipik kabul edilen bazı özellikler mevcuttur.

Hava akımını ölçmek için çeşitli yöntemler mevcuttur. Bunlardan spirometre ve peokflowmetre (PEFmetre) yaygın olarak kullanılan iki yöntemdir.

Spirometre farklı solunum manevraları sırasında akciğere giren ve çıkan havanın ölçümü için kullanılmaktadır. Efor bağımlı bir test olduğundan aynı hastanın yaptığı test sonuçlarında büyük değişkenlikler olabilmektedir. Beş yaş ve üzerindeki çocuklara uygulanabilir. Testin tekniği öncesinde çok iyi anlatılmalı ve en az üç kez (sekizi geçmemeli) yaptırılmalıdır. Spirometre manevrasında kişi, spirometre ağızlığına normal tidal volümde nefes alıp verir. Sonra derin nefes alması ve hızla derin nefes vermesi istenir. Nefes verme süresi kesintisiz olarak en az 6 saniye sürmesi gerekmektedir. Testin uygun şekilde başlamış olması ve uygun volum-akım eğri platosunu sağlamış olması gerekmektedir. Üç kabul edilebilir spirogram veya zorlu vital kapasite (FVC) manevrası sonrasında testin yeterli sayılması için en yüksek FVC ve ona en yakın olan FVC değeri arasında en fazla 0.150L, aynı şekilde en yüksek iki birinci saniyedeki zorlu ekspirium hacmi (FEV_1) arasında en fazla 0.150L fark olmalıdır. Tüm kriterler karşılandığında en yüksek FVC ve FEV_1 değerleri seçilir. Bir hastanın testinde bronş obstruksiyonu saptandığında bu obstruksiyonun bronkodilatör ile geri dönüşümlü olup olmadığının tespit edilmesi gerekir. Bu test sonucunda FEV_1 'de %12 veya 200 ml ve üzerinde artış olması astımın en önemli özelliklerinden olan reverzibilitenin varlığını gösterir. (1,56-58).

Bir spirometre cihazında yirmiden fazla spirometrik değişken ölçülebilmekle birlikte astım tanı ve izleminde genellikle dört parametre incelenir: FVC (maksimal bir inspirasyondan sonra zorlu bir ekspirasyonla çıkarılan hava hacmi), FEV_1 (zorlu ekspiryumda ilk saniye içinde çıkarılan hava hacmi), PEF (ekspiratuar zirve akım hızı), FEF_{25-75} (zorlu vital kapasitenin %25'i ile %75'i arasındaki ortalama akım). PEF'in büyük bronşlar, FEV_1 'in büyük ve orta çaplı bronşlar, FEF_{25-75} 'in ise orta ve küçük çaplı bronşlar hakkında fikir verdiği kabul edilmektedir.

2.9.2. Atopinin Değerlendirilmesi

Atopi, alerjenle temas sonrası genetik olarak IgE oluşturma eğilimi şeklinde tanımlanır ve astım için kanıtlanmış, önemli bir risk faktörüdür (59-61). Astım ve alerji arasındaki bu kuvvetli ilişkiden dolayı solunumsal yakınmaları olan bir hastada atopinin ve diğer atopik hastalıkların varlığının gösterilmesi hastanın astım olasılığını kuvvetlendirir. Bu amaçla geliştirilmiş testler ayrıca hastanın duyarlı olduğu alerjenleri belirleyerek kaçınması gereken çevresel risk faktörlerini de gösterir ve astım kontrolünün sağlanmasını kolaylaştırır.

Atopinin tayininde alerjen deri prik testleri ya da RAST yöntemi ile alerjen spesifik IgE ölçümü kullanılmaktadır. Pratikte en çok kullanılanı deri prik testleridir. Epidermal olarak uygulanan alerjen ekstraktları eğer hasta daha önce bu alerjenlere karşı duyarlanmışsa, alerjen deri mast hücreleri yüzeyinde bulunan spesifik IgE'ye bağlanır. Mast hücre granüllerinde depolanan medyatörlerin salınmasıyla tip 1 hipersensitivite reaksiyonu oluşur ve bunun sonucunda deride eritem/endurasyon gelişir. Basit, hızlı, düşük maliyetli ve yüksek duyarlılığa sahip bir yöntemdir, her yaşta uygulanabilir.

Eğer hastanın anamnezi test sonuçları ile uygunluk göstermiyorsa bu değerlendirme anlam taşımaz. Atopik duyarlılığın saptanması için testlerde yer alması önerilen standart allerjenler; pozitif/negatif kontrol, çimen poleni, dermatofagoides pteronyssinus, kedi ve alternaria allerjenleridir (62).

Kan eozinofil düzeyinin yüksek olması alerjik hastalıklarda olduğu gibi diğer pek çok hastalıkta da görülebilir. Varlığı tek başına alerjik hastalık tanısı için yeterli olmadığı gibi olmaması da tanıyı dışlamaz (63,64).

Total serum IgE düzeyleri yaşa bağlı olarak değişmektedir. Birçok çalışmada alerjik hastalığı olan çocuk ve erişkinlerin total serum IgE düzeylerinin alerjik olmayan kişilere göre daha yüksek olduğu gösterilmiş olmasına karşın tanısız değeri sınırlıdır. Serum total IgE düzeylerini başka faktörler de etkilemektedir.

2.10. Astım Şiddetinin Sınıflaması

Astım şiddeti; semptomlar, aktivite kısıtlanması, rahatlatıcı ilaç kullanma sıklığı, gece uyanmaları gibi bulgular ve solunum fonksiyon parametreleri kullanılarak intermitan, hafif persistan, orta persistan ve ağır persistan olarak dört grupta sınıflanmıştır (Tablo 2.1) (56).

Tablo 2.1. Astım şiddetinin değerlendirilmesi.

Astım şiddetinin bileşenleri		Astım Şiddeti			
		İntermitan	Persistan		
			Hafif	Orta	Ağır
Etkilenme	Gündüz semptomları	≤ 2 gün/hafta	> 2 gün/hafta ama her gün değil	Her gün	Tüm gün boyunca
	Gece uyanmaları				
	• 0-4 yaş	0	1-2 kez/ay	3-4 kez/ay	> 1 kez/hafta
	• > 5 yaş	≤ 2 kez/ay	3-4 kez/ay	> 1 kez/hafta Ama her gece değil	Sık, 7 kez/hafta
	Semptomlar için hızlı etkili β-2 agonist ihtiyacı	≤ 2 gün/hafta	> 2 gün/hafta ancak her gün değil ve herhangi bir gün günde bir kezden fazla değil	Her gün	Günde birkaç kez
	Aktivite kısıtlanması	Yok	Hafif	Biraz	İleri derecede
	Akciğer fonksiyonu				
	FEV ₁ (beklenen değer %)	Ataklar arasında normal FEV ₁			
	≥ 5 yaş	beklenen değer >%80	Beklenen değer ≥%80	Beklenen değer %60-80	beklenen değer <%60
	FEV ₁ /FVC oranı				
5-11 yaş	> %85	> %80	%75-80	< %75	
≥ 12 yaş	Normal	Normal	%5 azalmış	>% 5 azalmış	
Risk	sistemik kortikosteroid gerektiren ataklar				
	0-4 yaş	0-1/yıl	6 ay içinde sistemik kortikosteroid gerektiren ≥2 alevlenme veya bir günden fazla süren ≥ 4 vizing atağı/yıl ve persistan astım için risk faktörleri		
	> 5 yaş	0-1/yıl	≥ 2/yıl		

2.11. Astım Kontrolü

Güncellenen astım rehberlerinde ağırlık veya hastalık şiddeti kavramlarının yerine kontrol kavramı gelmiştir (1,56). Daha önce astımda hastalığın şiddetine göre basamak tedavisi uygulanmaktaydı. Bu yaklaşımla hastaların büyük çoğunluğunun kontrol altında olmadığı ve uygun ilaç kullanmadığı görüldüğünden, şiddete bağlı tedavi yaklaşımının uygun olmadığı ve şiddet kavramıyla ilgili önemli sorunlar olduğu düşünülerek güncellenen astım rehberlerinde hastalık şiddeti kavramının yerine kontrol kavramı gelmiştir (1,65). Hastayı o anki semptom ve fonksiyonlarıyla değerlendirmenin hastalığın değişken doğasına aykırı olduğu sonucuna varılmış olup kontrole göre değerlendirme yapılmasına karar verilmiştir. Amaç her şiddet derecesinde kontrolün sağlanması ve sürdürülmesidir, ancak hastalığın şiddetine bağlı olarak kontrolün sağlanması için gereken ilaç dozu farklı olabilir (65,66). Astım remisyon ve relapslarla seyreden bir hastalık özelliği taşıdığından, remisyon dönemlerinde hasta kontrol altındaymış gibi düşünülebilir. Bu yüzden kontrolün klinik metodlarla ölçülmesi önemlidir. Astım kontrolünün değerlendirilmesi Tablo 2.2'de anlatılmıştır.

2.12. Astım Tedavisi

Astım tedavisinde amaç hastalığı kontrol altına almaktır. Çevre kontrolü, eğitim ve ilaçlar astım tedavisinin temellerini oluşturmaktadır.

- Hastalık şiddetinin değerlendirilmesi, tedavisi, düzenli olarak izlenmesi,
- Çocuğun ve ailesinin tedavi ile ilgili bilgi ve becerilerinin geliştirilmesi, eğitimlerinin sağlanması,
- Astımı kötüleştirecek olan tetikleyici faktörlerin ve durumların belirlenmesi ve düzeltilmesi,
- Hastanın ihtiyacına yönelik tedavilerin belirlenmesi
- Astım alevlenmelerinin farkedilip tedavi edilmesi olarak özetlenebilir.

Daha önceleri astım tedavi basamağı astım şiddetine göre belirlenirken son yıllarda 'astım kontrol düzeyi' göz önüne alınarak tedavi şekli

planlanmaktadır. Uluslararası Astım Tanı ve Tedavi Rehberi'nde de başlangıçta astım tedavisi astım şiddetine göre planlansa bile takipte astım kontrol düzeyi değerlendirilerek uzun süreli astım tedavisinin planlanmasını önermektedir (1, 56,57,67,68).

Tablo 2.2. Çocuklarda astım kontrolünün değerlendirilmesi.

	Kontrol Bileşenleri	Astım Kontrol Sınıflaması		
		Kontrol altında	Kısmen kontrol altında	Kontrol Altında Değil
Etkilenme	Gündüz Semptomları	≤2 gün/hafta ancak günde birden fazla değil.	> 2 gün/hafta veya ≤2 gün/hafta	Gün boyunca
	Gece uyanmaları			
	• 0-4 yaş	≤ 1 kez /ay	> 1 kez /ay	≥ 1 kez /hafta
	• 5-11 yaş	≤ 1 kez /ay	≥ 2 kez /ay	≥ 2 kez /hafta
	• ≥ 12 yaş	≤ 2 kez /ay	1-3 kez /hafta	≥ 4 kez /hafta
	Kısa etkili β-2 agonist ihtiyacı	< 2 gün/hafta	> 2 gün/hafta	Günde birçok kez
	Aktivite kısıtlanması	Yok	Biraz	İleri derecede
	Akciğer fonksiyonu			
	• 5-11 yaş			
	FEV ₁ , % veya zirve akım hızı	Beklenen değer > %80 veya Kişinin en iyi yapabildiği değer	Beklenen değer %60-80 veya kişinin en iyi yapabildiği değer	Beklenen değer <% 60 veya kişinin en iyi yapabildiği değer < %75
FEV ₁ /FVC	> %80	%75-80	< %75	
• ≥12 yaş				
FEV ₁ , % veya zirve akım hızı	Beklenen değer veya kişinin en iyi yapabildiği değer > %80	Beklenen değer veya kişinin en iyi yapabildiği değer %60-80	Beklenen değer veya kişinin en iyi yapabildiği değer < %60	
Risk	Sistemik Steroid gerektiren ataklar			
	0-4 yaş	0-1 /yıl	2-3/yıl	> 3/yıl
	> 5 yaş	0-1 /yıl	≥ 2/yıl	

Astım tedavisinde ilaçlar çok büyük çoğunlukla inhaler yolla verilir. Her yaştaki çocuk uygun cihaz ve eğitimle inhaler yolla ilaç alabilir. Farklı yaş grupları için çeşitli cihazlar geliştirilmiştir. Her çocuk için en uygun olan cihaz bulunup eğitiminin verilmesi ilaç tedavisinin en önemli basamağıdır.

Astım tedavisinde kullanılan ilaçlar kontrol edici ilaçlar ve rahatlatıcı ilaçlar olarak sınıflandırılırlar. Kontrol edici ilaçlar esas olarak anti-inflamatuar etkileri ile astımın kontrolünü sağlamak üzere uzun süreli ve her gün kullanılan ilaçlardır. Bu grup; inhaler steroidleri, lökotrien reseptör antagonistlerini (LTRA), uzun etkili inhale β2-agonistleri, yavaş salınan teofilini, anti-IgE ve sistemik steroidi içerir. Rahatlatıcı ilaçlar ise hızlı etki ederek bronkodilatasyon yapan,

semptomları gideren ve gerektiğinde kullanılan ilaçlardır. Bu grup; hızlı etkili inhale β 2-agonistleri, inhale antikolinergikleri ve kısa etkili teofilini içerir.

İnhale korikosteroidler (İKS) günümüzde persistan astımın tedavisinde kullanılan en etkili anti-inflamatuar ilaçlardır. Astım semptomlarını kontrol altına alan ve inflamasyonu azaltan en etkili ilaçlar olup astım tedavisinde tüm yaşlardaki çocuklar için ilk seçenektir. Çalışmalarda bu ilaçların astım semptomlarının, hava yolu aşırı duyarlılığının, hava yolu inflamasyonunun, atak sıklığının ve şiddetinin azaltılması, astıma bağlı mortalitenin azaltılması, yaşam kalitesinin ve akciğer fonksiyonlarının artırılması, sonuç olarak astımın kontrol altına alınmasındaki etkinliği gösterilmiştir (69-73). Ancak bu ilaçlar astımda kullanıldığı süre içinde etkilidir, tedavi kesilecek olursa astım kontrolünde bozulma oluşabilir (74,75).

Son rehberlerde astımdaki anti-inflamatuar tedavi seçenekleri içinde lökotrien antagonistleri ikinci sırada yer almaktadır. Klinik çalışmalar lökotrien antagonistlerinin küçük ve değişken bir bronkodilatör etkisinin olduğunu, öksürük dahil olmak üzere semptomları azalttığını (21,76), akciğer fonksiyonunda düzelmeye sağladığını ve hava yolu inflamasyonu ile astım alevlenmelerini azalttığını göstermiştir (31-33,77,78). Ancak inhale steroidler kadar etkili değildir. Astım kontrol altına alınmadığında İKS tedavisine eklendiğinde klinik yanıtta iyileşme gözlenmektedir.

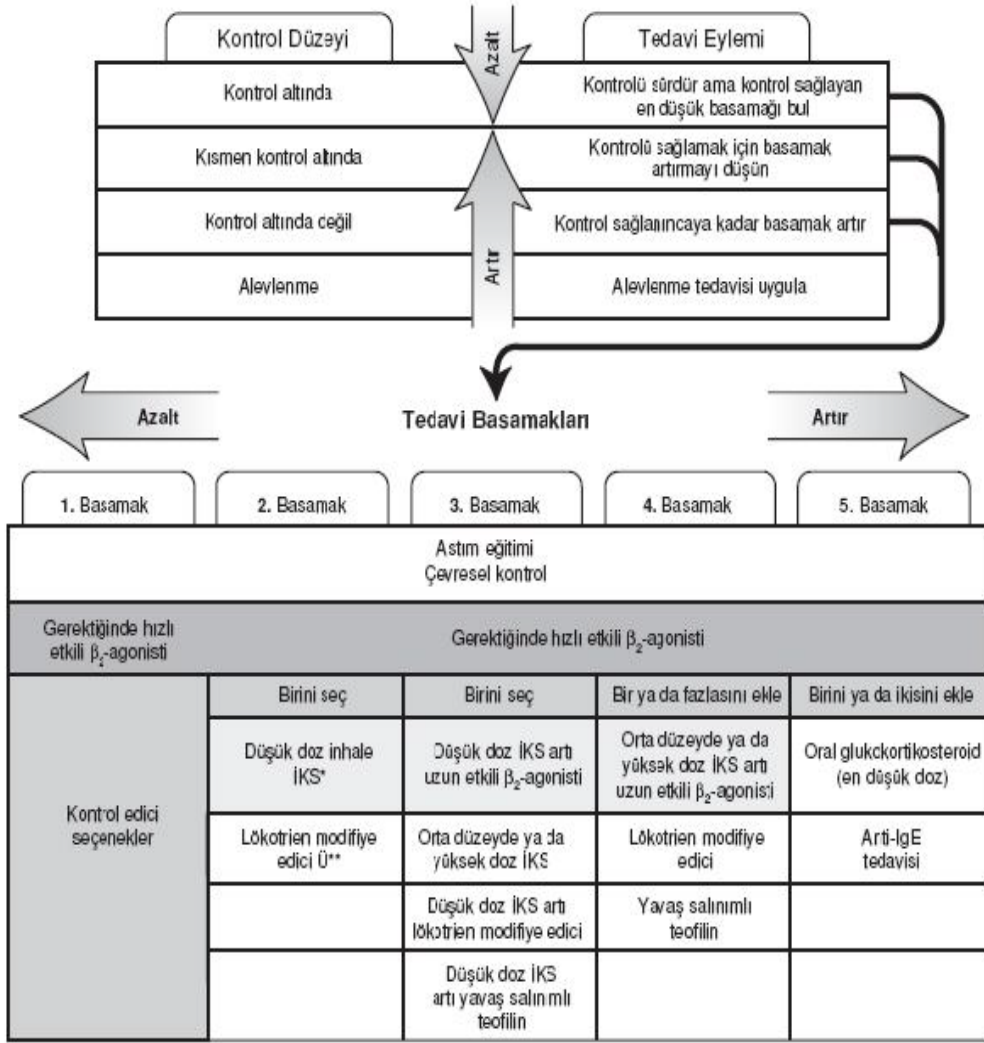
Formoterol ve salmeterol gibi uzun etkili inhale β 2-agonistler (LABA) hava yolu inflamasyonunu etkilemediği için her zaman inhale steroidlerle birlikte kullanılmalıdır. Tek başına kullanılması önerilmemektedir. İnhale steroidlerle birlikte kullanıldığında steroidin etkinliğini artırır. İnhaler steroidlere uzun etkili inhale β 2-agonistlerinin eklenmesi, gece ve gündüz semptomlarında, kısa etkili inhale β 2-agonisti kullanımında (49-51,79,80), alevlenme sayısında azalma ve akciğer fonksiyonlarında düzelmeye ile hızlı klinik kontrol sağladığını gösteren çalışmalar vardır (76,59-64,81,82).

Astım hastanın kullanmakta olduğu ilaçlarla kontrol edilemiyorsa, kontrol sağlanıncaya kadar tedavi basamağı artırılmalıdır. Kontrol altına alınan ve en az 3 aydır kontrolde olan hastada ilaç tedavisi bir basamak azaltılabilir. Buna kontrole dayalı basamak tedavisi denir. İnhale steroid hasta kontrol altında ise

en düşük doza ulaşana kadar her üç ayda bir ilaç dozu %25-50 oranında azaltılabilir (56). Astım kısmen kontrol altında ise bir basamak, astım kontrol altında değilse tedavi iki basamak artırılması önerilir. Her basamakta yaşa göre astımı kontrol altına almak için gereken tedavi Tablo 2.3'de ve astım kontrol durumuna göre basamak artırıp azaltılması Şekil 2.6'da özetlenmiştir (2, 56).

Tablo 2.3. 0-4 yaş, 5-11 yaş ve ≥12 yaş çocuklarda basamak tedavi yaklaşımı.

	Intermitan Astım	Persistan Astım				
		Basamak 1	Basamak 2	Basamak 3	Basamak 4	Basamak 5
0-4 Yaş	Kısa etkili β-2 agonist (gerektiğinde)	Düşük doz İKS	Orta-doğ İKS	Orta-doğ İKS + LABA veya LTRA	Yüksek-doğ İKS + LABA veya LTRA	Yüksek-doğ İKS + LABA veya LTRA + oral kortikosteroid
		<i>Alternatif</i> <i>Kromolyn veya montelukast</i>				
5-11 yaş	Kısa etkili β-2 agonist (gerektiğinde)	Düşük-doğ İKS	Düşük- doğ İKS + ya LABA, ya LTRA veya Teofilin veya orta-doğ İKS	Orta-doğ İKS + LABA	Yüksek doğ İKS + LABA	Yüksek-doğ İKS + LABA + oral kortikosteroid
		<i>Alternatif</i> <i>Kromolyn, LTRA, Nedokromil veya Teofilin</i>		<i>Alternatif</i> <i>Orta-doğ İKS + LTRA veya Teofilin</i>	<i>Alternatif</i> <i>Yüksek-doğ İKS + ya LTRA ya da Teofilin</i>	<i>Alternatif</i> <i>Yüksek-doğ İKS + LTRA veya Teofilin + oral kortikosteroid</i>
≥ 12 yaş	Kısa etkili beta-2 agonist (gerektiğinde)	Düşük-doğ İKS	Düşük doğ İKS + LABA veya Orta-doğ İKS	Orta- doğ İKS + LABA	Yüksek-doğ İKS + LABA	Yüksek-doğ İKS + LABA + oral kortikosteroid
		<i>Alternatif</i> <i>Kromolyn, LTRA, Nedokromil, veya Teofilin</i>	<i>Alternatif</i> <i>Düşük-doğ İKS + LTRA, teofilin, veya zileuton</i>	<i>Alternatif</i> <i>Orta-doğ İKS + LTRA, teofilin veya zileuton</i>	<i>Alerjisi olan hastalarda omalizumab düşünülebilir</i>	<i>Alerjisi olan hastalarda omalizumab düşünülebilir</i>



* İKS = İnhalasyon glukokortikosteroidler

**Ü = Reseptör antagonisti ya da sentez inhibitörleri

Şekil 2.6. Astım kontrol durumuna göre basamak artırıp azaltılması

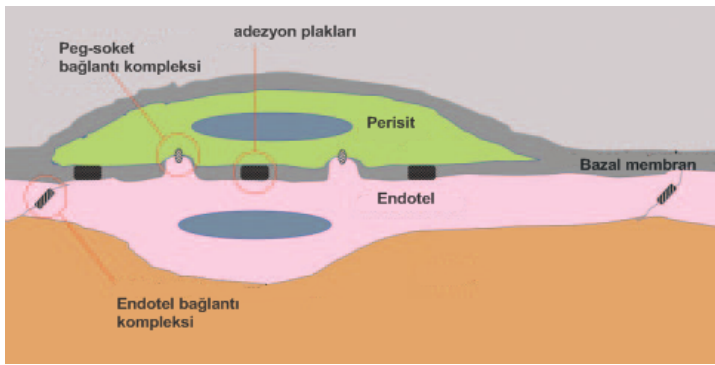
2.13. İnflamasyon ve Anjiogenez

İnflamasyon; organizmada enfeksiyon, fiziksel, kimyasal ve diğer etkenlerin neden olduğu bir doku hasarına karşı sellüler ve hümmoral düzeyde oluşan güçlü bir fizyolojik yanıttır. Lökositlerin hasar olan bölgeye taşınmasını sağlamak en önemli fonksiyondur. Amaç hasara neden olan etkeni ve oluşan nekrotik dokuyu ortadan kaldırmaktır. Ancak lökositlerden salınan enzimler, kimyasal mediatörler ve toksik oksijen radikalleri ile hem inflamasyonun devam etmesine hem de doku hasarına neden olmaktadır. İnflamatuar hücrelerin neden olduğu doku hasarı; yeni damar oluşumunu da içeren doku tamiri ve fibrozis ile karakterizedir. İnflamasyon sırasında organizmada damar çapı ve kan akımı artar, kapiller geçirgenlik artar, lökositler diyapedezle dokuya geçer. Hasarlanan dokudan yayılan histamin, lizozomal enzimler, prostaglandinler, lökotrienler, serotonin gibi kimyasal mediatörler hasarlanmamış alana doğru yayılır. İnflamasyon vücudu patojenlere karşı korumak için gerekli olmasına rağmen çevre dokular üzerinde ters etkilere neden olabilir. Bu etkilerden bazıları aynı zamanda anjiogenezi uyarmaktadır.

Anjiogenez; önceden var olan kan damarlarından yeni kan damarlarının oluşması sürecidir. Anjiogenez terimi ilk kez, önceden mevcut bulunan postkapiller venüllerden endotel tomurcuklarının gelişimini ifade etmek için kullanılmıştır. Bu terim son zamanlarda, primitif damar ağının kompleks bir ağ yapısına dönüşmesini ve yeniden şekillenmesi anlamında değiştirilmiştir. Anjiogenez hipoksi veya inflamasyon gibi mikroçevresel faktörler tarafından uyarılmaktadır (83). Kanser, iskemik kardiyovasküler hastalıklar, retinopatiler, yara iyileşmesi ve enflamasyon gibi birçok durumda önemli ölçüde yer almaktadır. Anjiogenez fizyolojik olarak gereklidir. Ancak obezite, diabet, astım, enfeksiyonlar, kanser, psoriasis, romatoid artrit, ateroskleroz ve endometrioziste olduğu gibi bazı farklı durumlarda patolojik olabilmektedir (83,84). Kronik inflamatuvar hastalıklarda anjiogenez ve mikrovasküler yeniden yapılanma dokudaki remodellingin önemli bir kısmından sorumludur.

Anjiogenez; endotel hücrelere etki eden birçok sinyal sonucu tetiklenmektedir. Endotel hücreler damarların iç tabakasını oluşturmaktadır. Kan

damarlarının fonksiyonlarını düzenleyen perisitler tarafından çevrenmektedirler. Perisitler kan damarlarının fonksiyonlarını düzenler. Damar endoteli plazma ve hücrelerin kan dolaşımından dokulara geçişini kontrol eden sıkı bir bariyer oluşturur (Şekil 2.7) (85). Bu bariyer tek sıra endotel hücrelerinden oluşur. Plazma ve lökositlerin kan dolaşımına giriş ve çıkışını kontrol ederler. Bariyer fonksiyonunun endotel hücreleri tarafından düzenlenmesi kan damarlarının oluşması ve inflamatuvar yanıtın gerçekleşmesi için kompleks sinyal yollarının koordine çalışması gerekmektedir.



Şekil 2.7. Endotel-perisit ilişkisi.

İnflamasyon yanıtı fiziksel hasar, hipoksi ve patojenler gibi birçok faktörün etkisi ile lökotrienler, interlökinler, TNF- α , VEGF ve endotoksinler aracılığıyla tetiklenmektedir. Bazı sitokinler de transkripsiyon faktörlerini aktive ederek inflamatuvar yanıtı başlatır. Bu ve benzer uyarılar sonrasında endotel aktive olarak önceden sentezlenmiş ve depolanmış olan von-willebrand factor, P-selectin, CD63, IL-8, endotelin-1, doku plasminojen aktivatorü ve angiopoietin (Ang)-2 gibi moleküller saniyeler veya dakikalar içinde salınmaktadır. Bu moleküllerin hepsi hızlı endotel yanıtı, hemostaz, inflamasyon, hemodinamik adaptasyon ve damar geçirgenliğinin kontrolünde rol almaktadır. Endotelin aktive olmasıyla endotel hücreleri arasındaki bağlar zayıflar ve yüzeyel adhezyon molekülleri salınır. Lökositlerin endotele sıkıca bağlanması ve takiben endoteli geçerek dokuya ulaşması ile sonuçlanır. Endotel aktivasyonu sonrası inflamasyon olan bölgelerde ICAM-1 ve VCAM-1 gibi spesifik bir grup adezyon molekülü ekspresyon eder. Lökosit adezyonu, migrasyon veya trombus oluşumu ile sonuçlanır. Dolaşımdaki sitokinler ve kemokinler lokal olarak spesifik damar

yatakları üzerinde fonksiyonlarını gösterirler. Ancak bu damar yatağı aktivasyon programını ve bunu takiben adezyon molekül salınımını kontrol eden mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir.

Astımlı hastalarda hava yolu duvarının daha kalın olduğu çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (86,87). Damarlardaki genişleme ve konjesyon gibi değişiklikler de buna katkıda bulunmaktadır (86,87). Hafif astımda bile hava yolu mukozasının ödemli olduğu, genişlemiş ve dolgun kan damarları içerdiği fark edilmiştir (87,88). Astımda ve astım hayvan modellerinin akciğerlerinde de anjiyogenik faktörlerin salınımlarının artmış olduğu gözlenmiştir (89-92). Hava yolu duvarındaki en ufak kalınlaşma dahi bronş daralmasına ve hava yolu iletiminin azalmasına neden olmaktadır (38,39,88). Bazı çalışmalarda astım şiddeti ile damar sayısı ve vaskülaritenin ilişkili olduğu gösterilmiştir (93-94).

Endotel aktivasyonu sadece anjiogeneze değil aynı zamanda inflamasyonla ilişkili hastalıkların başlamasına da öncülük etmektedir. İnflamasyon ve anjiogenezin birbirini etkilediği bilinmektedir ancak bu ilişkinin nasıl olduğu henüz tam olarak anlaşılammıştır. Damar endotel hücreleri dokudaki uyarılara göre anjiogenez ve/veya inflamasyon ile yanıt verirler. Anjiogenezde görev alan Ang-2'nin aynı zamanda inflamatuvar yanıtı artırması anjiogenezin ve inflamasyonun ortak mekanizmaları içerdiğini desteklemektedir. Ayrıca anjiogenez düzenleyen tirozin kinaz reseptörleri inflamasyon sırasında endotel hücre yanıtını kontrol etmektedir. Endotel hücre homeostazını sağlamada Ang - Tyrosine kinase with immunoglobulin-like and EGF-like domains (Tie) sistemi anahtar role sahiptir. Angiopoietin - Tie reseptör sistemi iki tirozin kinaz reseptörü (Tie-1 ve 2) ve dört ilgili ligandan (Ang-1,2,3 ve 4) oluşmaktadır (Şekil 2.8). Bu sistemde yer alan Tie reseptörleri hemen her zaman endotel hücre ve hematopoietik kök hücreler tarafından salınmaktadır (85,95-98). Tie-1 ve Tie-2 reseptörlerinin yapıları benzerdir. Ekstraselüler kısımları %33 benzerlik gösterir ve intraselüler tirozin kinaz kısmı %76 benzerlik gösterir (98). Angiopoietinler öncelikle Tie-2 reseptörü ligandları olarak tanımlanmıştır. Akciğerlerde en fazla Tie-2 meseneger ribonükleik asit (mRNA) ve protein bulunmaktadır. Akciğerler Tie-2 sinyaline bağımlıdır. Hem Ang-1,

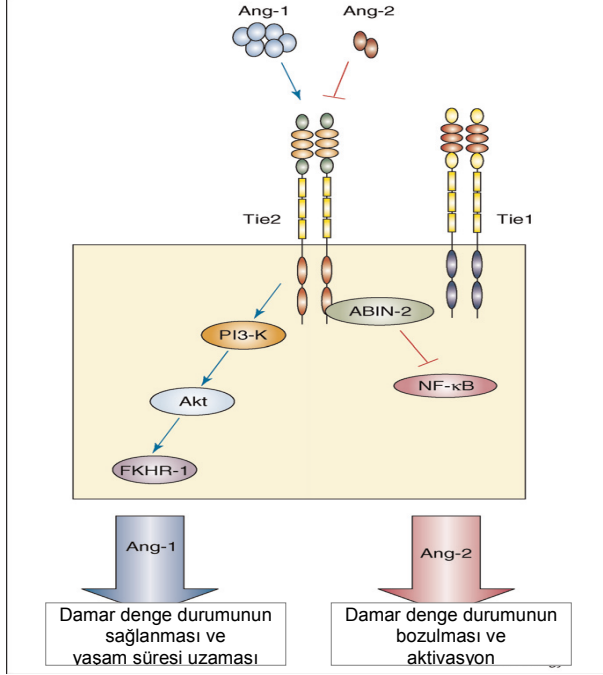
hem de Ang-2 Tie-2'nin ekstraselüler kısmındaki aynı bölgeye benzer afinitelerle bağlanır.

2.14. Angiopoietin 1 ve 2

Kan damarı oluşumunun ana düzenleyicileri angiopoietinlerdir. Angiopoietinler damar oluşumu ve remodellingde rol oynayan büyüme faktörleri ailesinde yer alır. Anjiogenezde rol almaları yanında inflamatuvar yanıtı da düzenlemektedirler.

Angiopoietinler arasında en iyi tanımlananlar Ang-1 ve Ang-2'dir. Özellikle perisitlerden Ang-1, endotel hücrelerinden Ang-2 salgılanmaktadır (99). Perisitler kılcal damarların çevresinde bazal laminanın dışında, onları çevreleyen mezansimal hücrelerdir (Şekil 2.7). Angiopoietin-1 perisitler, düz kas hücreleri, fibroblastlar ve bazı tümör hücrelerinde bulunur (100-102). Angiopoietin-1; Tie-2 reseptör agonisti olup damar yapısının ve fonksiyonlarının korunmasıyla birlikte anti-apoptotik ve anti-inflamatuvar özelliklere sahiptir. Lökositlerin endotele adezyonu ve endotelden geçişi, sitokin üretimi, adezyon molekül salınımını ve damar geçirgenliğini inhibe etmektedir (103-105). Nükleer faktör-kappa B (NF-κB); doku faktörü, ICAM-1, VCAM-1 gibi molekülleri kodlayan inflamatuvar genleri kontrol eden transkripsiyon faktörüdür. Angiopoietin-1 NF-κB aktivasyonunu inhibe ederek inflamatuvar sitokin üretiminin azalmasını sağlar ve inflamatuvar bir sitokin olan TNF-α'nın etkisine ters yönde etki eder. Angiopoietin-1 düşük TNF-α düzeylerinde kontrolsüz bir inflamatuvar yanıtı engeller (106). Aynı zamanda, eozinofil infiltrasyonunu adezyon molekül salınmasını azaltarak inhibe eder (107). Ayrıca Ang-1 aracılı Tie-2 fosforilasyonu ile hücre yaşam süresinin uzamasını sağlayan protein kinaz B (PKB)-Akt yolağının aktivasyonu gerçekleşmektedir (Şekil 2.8). Akt sinyali Ang-2 ekspresyonunun potent bir uyarıcısı olan *forkhead transcription factor* (FKHR)-1'in aktivasyonunu önleyerek Ang-2 sekresyonunun engellenmesine neden olur (108,109). Bu nedenle Ang-1 aracılı PKB-Akt sinyali direk olarak endotel hücre apoptozunu önler ve Ang-2 salınmasını önleyerek endotel aktivasyonunu engellemektedir. Tie-2'nin aktive olması **A20-binding inhibitor of nuclear factor**

(NF)- κ B (ABIN)in artmasına ve sonuç olarak NF- κ B yolağının engellenmesine neden olmaktadır (Şekil 2.8 ve 2.9). Bu durum, endotel hücresinin apoptoz ve inflamatuvar yanıtlara karşı korunmasını sağlar (106,110).



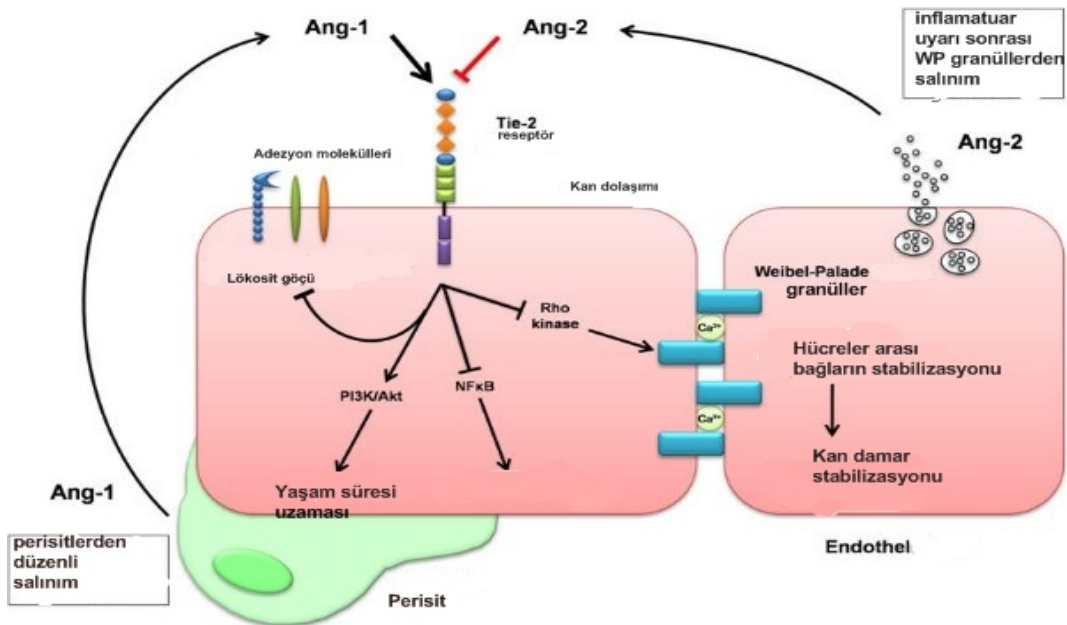
Şekil 2.8. Angiopoietin-1 ve Ang-2 ile Tie-2 reseptör etkileşimi, damar denge durumunun düzenlenmesi.

Özet olarak, Tie-2 fosforilasyonu anti-apoptotik ve endotel hücresinin durağan durumunun devamlılığını sağlar. Endotel hücresi üzerinde koruyucu etkisi olan Ang-1 hücrenin sitokinlerce aktive olabileme özelliğini kısıtlar. Angiopoietin-1 damarları adeta mühürler, inflamasyonu engeller ve damarların denge durumunun korunmasını sağlar. Bunların ötesinde Ang-1 VEGF'nin uyardığı kan damar oluşumu ve adezyon molekül ekspresyonunu engeller (110,111).

Angiopoietin-1'in astımda koruyucu rolü olduğu yönünde hipotezler vardır (102,112). Astımlı deney hayvanlarının akciğerlerinde Ang-1 düzeyleri düşük bulunmuştur (112). Astımda artan Transforming growth factor (TGF) - β , IL-1 β , trombin, NO gibi mediatörlerin Ang-1'in azalmasına neden olduğunu gösteren çalışmalar vardır (19,113-115). İnterlökin-1 β ve TNF- α 'nın insan endotel

hücrelerinde Ang-1 mRNA salınımını azalttığı saptanmıştır (115,116). İnterlökin-1 β güçlü bir immun düzenleyici, pro-inflamatuar ve pro-anjiogenik bir sitokin olup Ang-1 salınımını P38 *Mitojen activated protein kinase* (MAPK) yolu üzerinden azaltırken VEGF salınımını arttırmaktadır. P38 aktivasyonu endotel hücre yaşam süresinin azalması ile sonuçlanmaktadır (115,117). Tumor necrosis factor- α ise özellikle interferon (IFN) - γ ile birlikte etki ettiğinde NF-KB ve NO-bağımlı olarak Ang-1 salınımını azaltabilmektedir (118). Ayrıca astımlı hastaların balgamında sağlıklı bireylere göre Ang-1'in artmış olduğunu saptayan çalışmalara da rastlanmıştır (119).

Hayvan modellerinde Ang-1'in VEGF aracılı geçirgenlik ve matür kan damarlarından inflamasyonun neden olduğu sızıntıyı engellediği gösterilmiştir (120-122). Angiopoietin-1 aracılı Tie2 sinyalinin damar homeostaz ve endotel aktivasyonunu kontrol ettiğini desteklemektedir. Bunların ötesinde Ang-1 VEGF'nin uyardığı kan damar oluşumu ve adezyon molekül ekspresyonunu önlemektedir (104,110,111,113,120). Bu özellikleri ile Angiopoietin-1'in astımda koruyucu rolü olduğu düşünülmektedir.



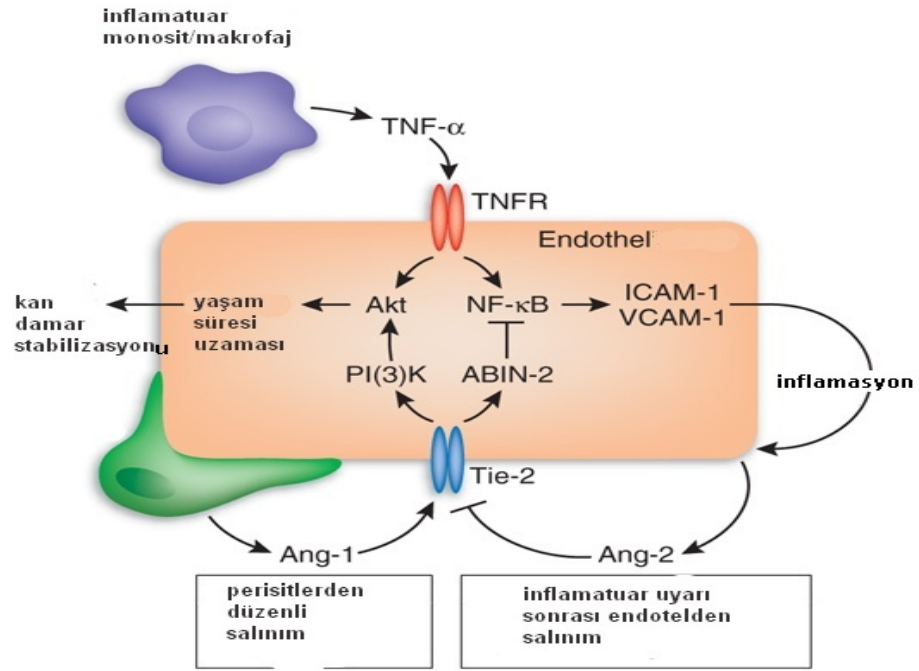
Şekil 2.9. Angiopoietin-1'in perisitlerden, Ang-2'nin endotelden salınımı ve Tie-2 reseptör üzerine etkileri.

Angiopietin-2 ise tam ters etkilere neden olur. Angiopietin-1'in aksine Ang-2 Tie-2 reseptörlerinde fosforilasyon yapmaz ve bu reseptörü inhibe ederek vasküler denge halini bozar. Böylece Ang-1'in damarları stabilize edici ve olgunlaştırıcı etkisi ortadan kalkar. Angiopietin-2 endotel hücre ile damar çevresindeki destek hücreleri ve ekstraselüler matriks arasındaki bağları gevşeterek mikrovasküler permeabiliteyi artırır. Etkisi lökosit adezyon basamağında başlar, endoteli aktive ederek ve endotel geçirgenliğini artırarak inflamatuvar yanıtı güçlendirir.

Endotel yanıtının kontrolünde Ang-2'nin rolü vardır. Angiopietin-2 inflamatuvar yanıtı tetikler, endotel dengesini bozar ve endotelin dış etkilere duyarlı hale gelmesine neden olur. Endotel dengesinin bozulması endoteli özellikle sitokinlere karşı duyarlı hale getirir. Vascular endothelial growth factor gibi anjiogenik, TNF- α ve IL-1 β gibi inflamatuvar sitokinlerin aktivitelerini kolaylaştırır (123,124). Dinlenme halindeki endotelde Ang-2 mRNA yok denecek kadar azdır. Endotel hücrelerdeki Weibel-Palade granüllerinde bulunan Ang-2'nin salınımı endotel aktivasyonu sonrasında güçlü bir şekilde artar (Şekil 2.9). Weibel-Palade cisimcikleri kılcal damarlardan daha büyük olan damarların endotelinde çubuk şeklinde gözlenir. Uyarı olduğunda hızlıca salınır (83). Farklı endotelotropik sitokinler (Fibroblast GF-2, VEGF ve TNF- α) ve çevresel faktörler (hipoksi, yüksek glikoz seviyeleri ve süperoksitler) tarafından Ang-2 salınımı uyarılmaktadır (123-128). Vascular endothelial growth factor varlığında Ang-2 ve Ang-1 konsantrasyon dengesinin Ang-2 yönünde bozulmuş olması kan damarlarının hipertrofisi ve hiperplazisi ile sonuçlanmaktadır (129,130). Angiopietin-2; damar stabilizasyonunun bozulmasıyla birlikte hypoxia inducing factor (HIF) -1 transkripsiyon faktörünü de aktive ederek hipoksiye neden olmaktadır. Hipoksi Ang-1 ekspresyonunu engellemektedir. Aynı zamanda hipoksi ile aktive olan HIF-1'in VEGF promotor bölgesine bağlanması sonucu VEGF üretimi için uyarı oluşmaktadır (115,123,127,128,131-134).

Güçlü TNF- α düzeyi Ang-2 varlığında Ang-1'in etkisinin kaybolduğu gösterilmiştir (124). Angiopietin-1'in anti-inflamatuvar etkisinin kaybolması antagonist Ang-2 üzerinden dolaylı olarak oluşmaktadır. Endotelde Ang-2 üretimini ve sekresyonunu TNF- α 'nın uyardığı düşünülmektedir. Angiopietin-

2'nin kompetitif olarak Tie-2 reseptörüne bağlanması Ang-1'in anti-inflamatuar fonksiyonlarını engeller ve endoteli TNF- α sinyaline karşı duyarlı hale getirir (şekil 2.10) (119). Aynı zamanda Ang-2'nin VEGF'e karşı endoteli duyarlı hale getirdiğini gösteren çalışmalar vardır(135). Angiopoietinler hipoksik durumlarda Ets-related factor-2'yi aktive ederek Tie-2 gen ekspresyonunu arttırdıkları saptanmıştır (90,131,136,137).



Şekil 2.10. Angiopoietin-1, Ang-2, TNF- α 'nın inflamasyon ve anjiogenezde koordine çalışması, ilgili reseptör ve yollar üzerine etkileri.

İnflamasyon aktivasyonu sonrasında sitokinlerle uyarılabilen adezyon moleküllerinin Ang-2 (-/-) farelerde hücre yüzeyinde eksprese olmadıkları ve de akut inflamatuvar yanıtın başlatılmadığı gösterilmiştir (124,138). Angiopoietin-2 endotel hücre adezyon molekül ekspresyonunu direk olarak etkilemez ancak inflamatuvar sitokinlere karşı dinlenme halindeki endoteli daha duyarlı hale getirir (124,138). Dengeli bir Ang-1/Ang-2 oranı damarların fonksiyonel durumunu belirlemektedir. Ang-1/Ang-2 oranı Ang-1 tarafında olduğunda Ang-2 üretimi azalmaktadır. Endotel hücre aktivasyonu sonrası Ang-2 salınır ve aynı zamanda

Ang-2 transkripsiyonunda artış olur. Bu oran lokal olarak Ang-2 tarafına kayar. Bu olayı takiben Ang-2'nin neden olduğu Ang-1-Tie sinyali üzerindeki negatif etki ile endotelin denge durumu bozulur ve endotelin diğer sitokinlere karşı duyarlı olmasına neden olur. Başka uyarı yoksa endotel dinlenme durumuna geri döner. İnflamatuar yanıt ve anjiogenez VEGF veya TNF- α varlığında uyarılır ve Ang-2 salınımının daha da artmasına neden olur (124). Diğer taraftan egzogen uyarılar yoksa Ang-2 artışı vasküler dengenin bozulmasına ve damar regresyonuna neden olabilir. Hanahan ve arkadaşları Ang-2'nin VEGF varlığında anjiogenezi uyardığını ancak VEGF ortamda yok ise damar regresyonuna neden olduğunu belirtmiştir (139). Bu olay lutealiz sırasında overlerde korpus luteumun regresyonuna benzetilebilir.

Astımlı deney hayvanlarının hava yolu epitelinde Tie-2 ve Ang-2 salınımının arttığı ve hava yolundaki remodellingin şiddeti ile ilişkili olduğu saptanmıştır (140). Astımlılarda Ang-2 ve VEGF seviyeleri arttığı gösterilmiştir. Astımlı hastaların balgamında Ang-1 ve Ang-2'nin artmış olduğu ve Ang-2 düzeyleri ile hava yolu darlık ciddiyeti arasında pozitif korelasyon olduğu rapor edilmiştir (119).

2.15. Vascular Endothelial Growth Factor

Vascular endothelial growth factor; en güçlü anjiogenik faktörlerden olup endotel hücre proliferasyonu ve anjiogenezi uyarır. Akciğer gibi damarlanması fazla olan organlarda daha fazla bulunmaktadır (141). Akciğerlerde en çok alveolar makrofajlar, eozinofiller, mast hücreler, T lenfositler, bronşial düz kas hücreleri, fibroblastlar ve epitel hücrelerden salgılanmaktadır.

Vascular endothelial growth factor yapımını ve salınımını birçok faktör ve sitokin etkilemektedir. Hipoksi, VEGF üretimi için major uyarıcıyı oluşturur. Hipoxia inducing factor-1'in aktivasyonu ve VEGF promotor bölgesine bağlanması sonucu VEGF üretimi gerçekleşir (131,132,133,134). İnflamatuar bir mediatör olan bradikinin de protein kinaz C bağımlı mekanizma ile VEGF sekresyonuna neden olur (136). Endotel NO sentaz (eNOS) inhibisyonu VEGF aracılı endotel hücre proliferasyonu ve organizasyonunu bozmaktadır (142).

Vascular endothelial growth factor salınımı IL-1 α ve IL-6 ile artarken, IL-10 ve IL-13 ile azalmaktadır.

Angiopietin-1 ve Ang-2 VEGF'in düzenleyici faktörleridir. Vasküler remodelling olayında birbirlerini tamamlayıcı rolleri vardır. Angiopietin-1'in VEGF aracılı geçirgenlik ve matür kan damarlarından inflamasyonun neden olduğu sızıntıyı engellediği gösterilmiştir (120,121,122). Düz kas hücreleri ile temas halinde olan endotel hücreleri VEGF'e yanıt oluşturabilmek için Ang-2'ye ihtiyaç duyar (124). Vascular endothelial growth factor ve Ang-2, bir transkripsiyon faktörü olan E74-like factor (Elf) -1'i aktive ederek de Tie-2 gen ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (130).

İlk kez Hoshino ve arkadaşları tarafından astımda VEGF'in arttığı bulunmuştur (143). Astım patogenez ve patofizyolojisinde VEGF'in önemli rolü olduğu detaylı hayvan çalışmaları gösterilmiştir (89,90). Respiratuar alerjenlere karşı Th2 aracılı duyarlanmayı ve aktive dentritik hücrelerin sayısını da arttırmaktadır (90). Astımlı hastaların hava yolu mukozasında VEGF (+) hücrelerin daha fazla olduğunu rapor edilmiştir ve mikrovasküler remodelingde aktif rol aldığı belirlenmiştir (89,144). Bir başka çalışmada astımlı hastaların balgamında Ang-1 ve Ang-2 ile birlikte VEGF düzeylerinin de artmış olduğu gösterilmiştir (119). Astım hastalarında kontrol gruba göre balgam VEGF düzeylerinin artmış olduğu ve de hava yolu obstrüksiyon derecesi ile aralarında negatif bir ilişki olduğu bulunmuştur (145). Vascular endothelial growth factor mikrovasküler geçirgenliği artırır. Mukozal ödemin oluşması ve hava yolu çapının azalmasına neden olur. Astımlı hastaların havayollarında VEGF salınımının arttığı ve mukozal vaskülarite ile pozitif ilişki gösterdiği bulunmuştur (119,146-148). Vaskülarizasyon düzeyi ve astım şiddeti ile VEGF seviyeleri arasında pozitif korelasyon olduğu daha önceki çalışmalarda da gösterilmiştir (145, 149,150). Vascular endothelial growth factor salınımı arttığında hava yolu aşırı duyarlılığında artış olduğu gözlenmiştir (151).

Astımlı hastalarda VEGF düzeyi ile vasküler permeabilite indeksi arasında pozitif korelasyon olduğu gösterilmiştir (119). Aynı zamanda vasküler permeabilite indeksinin Ang-1 arttığında azaldığı, Ang-2 arttığında arttığı saptanmıştır (119). Vasküler permeabilite indeksi indüklenmiş balgamdaki

albuminin serum albuminine oranını temsil etmektedir. Damar geçirgenlik durumunun tespit edilmesi için kullanılmaktadır. Endotel hücreler arasındaki bağların gevşemiş olması ve yeniden yapılanmış kan damarlarının damar yüzey alanını arttırmış olması nedeniyle damar dışına plazma proteinlerinin de içinde bulunduğu sızıntı olmaktadır.

2.16. Tumor Necrosis Factor- α

Pro-inflamatuar bir sitokin olan TNF- α ; inflamasyon veya enfeksiyona yanıt olarak salgılanır. Doğal immünite açısından önemlidir ve başlıca makrofajlar tarafından üretilir. Adaptif immün sistem aktivasyonu öncesinde konağı istila eden organizmaya karşı erken savunmayı sağlar (152). Tumor necrosis factor- α , TNF reseptörü ile etkileşime girer. Bu reseptör ligand etkileşimi NFKB fosforilasyonu ile sonuçlanarak IL-8, IL-6 ve TNF- α gibi pro-inflamatuar sitokinlerin transkripsiyonunu artırır.

İnflamatuar bir sitokin olan TNF- α endotel hücreler üzerindeki ICAM-1 ve VCAM-1 adezyon moleküllerinin de artmasına neden olur. Lökositlerin integrinleri ile etkileşir. Lökosit adezyonu ve ektravazasyon ile sonuçlanır. İnflamasyona erken yanıt sırasında ICAM-1 ve VCAM-1'in salınımı ile lokal immün reaksiyon düzenir.

Bazik fibroblast growth factor (FGF), TNF- α , TGF β gibi astımda artan fibrojenik büyüme faktörlerinin aynı zamanda anjiogenik potansiyelleri vardır (148,153). Tumor necrosis factor- α endotelden Ang-2'nin üretimi ve sekresyonunu sağlar. Vasküler endothelial growth factor veya TNF- α gibi egzojen bir uyarı varlığında hem inflamatuvar hem anjiogenik yanıt uyarılır ve Ang-2 salınımının daha da artmasına neden olur (113,119). Angiopoietin-1 ise TNF- α 'nın etkisine ters yönde etki eder. Angiopoietin-Tie sistemi düşük düzeylerdeki TNF- α 'nın kontrolsüz bir inflamatuvar yanıtı neden olmasını engellemektedir. Tumor necrosis factor- α , IFN- γ ile birlikte Ang-1 salınımını azaltır. Bu olay NF-kB ve NO bağımlı yol ile gerçekleşir (118). Ang-1 azalırken, Ang-2 salınımının artmasıyla kontrol mekanizması ortadan kalkar ve TNF- α etkisini göstermeye başlar. Yapılan çalışmalarda astımlı hastaların hava

yollarında TNF- α mRNA ve proteininin artmış olarak bulunması TNF- α 'nın astımdaki inflamatuvar yanıtta katkıda bulunduğunu göstermektedir (154,155). Tumor necrosis factor- α ; IL-1 β ile birlikte astım patogenezindeki en önemli sitokinlerdendir ve astımda inflamatuvar yanıtın artmasına neden olmaktadır. (19,156). Tumor necrosis factor- α mast hücrelerinden direk olarak histamin salınımını tetikler ve mast hücrelerinden sitokin salınımını uyarır (157,158). Hava yolu düz kas hücrelerine lokalize olan mast hücreleri hava yolu aşırı yanıtı ve bronş daralması ile ilişkili bulunmuştur (21). Bunlar göz önüne alındığında TNF- α 'nın mast hücre ile düz kas hücreleri etkileşimine katkıda bulunarak hava yolu aşırı duyarlılığının gelişmesinde önemli olduğu düşünülmektedir (159-160). Ayrıca TNF- α 'nın astımla ilişkili olarak eozinofillerin endotel hücre üzerindeki sitotoksik etkisini arttırdığı saptanmıştır. T hücrelerin uyarılması ve T hücreler tarafından sitokin salınmasında da görev almaktadır (161). Ciddi ve steroide yanıtızsız astımda önemli rolü olduğunu gösteren çalışmalar vardır (156,162).

3. HASTALAR ve YÖNTEM

Eylül 2010 ve Temmuz 2011 tarihleri arasında Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Ankara Hastanesi pediatrik alerji polikliniğine başvuran yaşları 6 ile 16 yaş arasında değişen 40 hafif veya orta persistan astımlı ve pediatri polikliniğine başvuran 32 sağlıklı çocuk çalışmaya alındı.

Etik kurul onayı (KA11/32) alındı ve Helsinki Deklarasyonu uyarınca her hastanın anne ve babasına çalışma ile ilgili aydınlatılmış onam formu imzalatıldı.

İnhale steroid kullanmakta olan, son üç ayda sistemik steroid kullanım ihtiyacı olmamış, son üç ay içinde astım atağı geçirmemiş olan astım tanısıyla izlenen çocuklar çalışmaya alındı. Akut astım atağında olan, son bir ay içinde üst veya alt solunum yolu enfeksiyonu geçiren, son üç ayda akut astım atağı geçirmiş olan çocuklar çalışmaya alınmadı.

Kontrol grubuna herhangi bir sistemik hastalığı veya sürekli kullandığı ilaç bulunmayan, astım, bronşit, allerjik bronşit veya allerjik riniti olmayan sağlıklı çocuklar seçildi.

Çalışmaya alınan hastaların yaşı, cinsiyeti, vücut ağırlığı, boyu, vücut kitle indeksi, astım başlangıç yaşı, hayvan besleme hikayesi, evde sigara maruziyeti, atopi varlığı, astım atağı nedeniyle hastaneye yatış, eşlik eden allerjik rinit, kan alındığı sırada allerjik rinit semptomları ve ailede allerjik hastalık olup olmadığı değerlendirildi. Tekrarlayan hışıltı ve/veya nefes darlığı öyküsü olan spirometrede bronkodilatör sonrası FEV₁'de %12 ve üzerinde veya 200 ml ve üzerinde artış (reversibilite) belirlenen, astım tedavisine yanıt veren hastalar astım olarak kabul edildi.

Uluslararası Astım Tanı ve Tedavi Rehberi (GINA)'ndeki gündüz ve gece semptomları, alevlenme sayıları, FEV₁ değerleri gibi özelliklere göre pediatrik alerji polikliniğinde muayene eden doktor tarafından astım şiddeti belirlenerek hafif veya orta persistan astım hastaları çalışmaya alındı (1).

Gündüz ve gece semptomlarının sıklığı, kurtarıcı ilaç kullanma sıklığı, alevlenme sayıları, aktivitelerde kısıtlanma ve solunum fonksiyon testleri dikkate alınarak muayene eden doktor tarafından astım kontrolü değerlendirildi (1).

Tam kan sayımı hastalardan standart olarak hazırlanmış EDTA'lı tüpe 2 cc kan alınarak tam kan sayım cihazında (Cell-dyn 3700; Abbott Diagnostics, Santa Clara, CA, USA) yapıldı. Eozinofil sayısı ve yüzdesi kayıt edildi.

Total Ig E ölçümü için alınan örnekler seroloji laboratuvarında astımlı hastalarda Enzyme Linked Imunosorbent Assay (ELISA) (DiaMetra, Paciana, Italy) yöntemi kullanılarak çalışıldı.

Hastalardan 3 cc venöz kan örneği standart biyokimya tüplerine alındı. 20 dakika süreyle santrifüj edildi ve elde edilen plasma -80 derecede derin dondurucuda saklandı.

Hasta ve kontrol grubunun dondurulmuş olarak saklanan serum örnekleri eritildikten sonra Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya laboratuvarında Ang-1, Ang-2 ve VEGF düzeyleri ELISA (RayBiotech, Inc) yöntemiyle, serum TNF- α düzeyleri Enzyme Amplified Sensitivity Immunoassay (EASIA) (DIAsource ImmunoAssays S.A., Nivelles, Belgium) yöntemi ile ölçüldü. Katalog numaraları ELH-Angiopoietin1-001, ELH-Angiopoietin2-001, ELH-VEGF-001 ve KAP1751: 96 tests şeklindeydi.

Çalışma başlangıcında önce hastaların takipleri sırasında BÜTF Pediatrik Alerji Bölümünde yapılmış olan standard deri prik testlerinin sonuçları kaydedildi. Deri prik testleri ev tozu akarları (*Dermatophagoides pteronyssinus* ve *Dermatophagoides farinae*), çim poleni karışımı (*Dactylis glomerata*, *Lolium perene*, *Phleum pratense*, *Avana sativa*, *Festuca elatior*, *Agrostis vulgaris*, *Holcus latanus* ve *Bromus*), yabancı ot karışımı (*Artemisia vulgaris*, *Plantago lanceolata* ve *Chenopodium album*), tahıl poleni karışımı (*Hordeum vulgare*, *Triticum vulgare*, *Avena sativa* ve *Zea mays*), ağaç poleni karışımı (*Acer pseudoplatanus*, *Aesculus hippocastanum*, *Platanus vulgaris*, *Robinia pseudoacacia* ve *Tilia platyphyllos*), *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, köpek, kedi, kuş tüyü gibi en sık karşılaşılan alerjenlere karşı olan standard alerjen ekstraktlarını içermekteydi. Oluşan ödemin çapı ölçülerek negatif kontrolden üç milimetre ve üzerindeki değerler pozitif olarak kabul edildi.

Astımlı çocuklara kan verdikleri gün solunum fonksiyon testi (SFT) yapıldı. Solunum fonksiyon testleri Flowhandy ZAN 100 USB (Nspire health, GmbH, Oberthulba, Germany) spirometre cihazı ile yapıldı. Üç kabul edilebilir

spirogram veya FVC manevrası sonrasında testin yeterli sayılması için en yüksek iki FVC değeri arasında 0.150L'den az, aynı şekilde en yüksek iki FEV₁ değeri arasında 0.150L'den az fark olan sonuçlar alındı. Tüm kriterler karşılandığında en yüksek FVC ve FEV₁ değerleri seçildi. Spirometrik değerlendirmelerden FVC, FEV₁, FEV₁/FVC ile FEF₂₅₋₇₅ çalışmada kullanıldı.

İstatistiksel analizde sürekli değişkenlerin normal dağılıma uyumu Shapiro-Wilk testi ile kontrol edildi. Varyansların homojenliği ise Levene testi ile analiz edildi. Parametrik testlerin varsayımları yerine geldiğinde bağımsız iki grup ortalamasının karşılaştırılması amacıyla Student's t testi kullanıldı. Üç veya daha fazla bağımsız grup ortalamasının karşılaştırılması amacıyla ise tek yönlü varyans analizi ve ardından çoklu karşılaştırma yöntemlerinden Tukey HSD testi kullanıldı. Bazı değişkenler bakımından parametrik testlerin ön şartlarının yerine gelmediği görüldüğünden söz konusu değişkenlere ilişkin bağımsız iki grup ortancasının karşılaştırılması amacıyla Mann-Whitney U testi kullanıldı. Üç ve daha fazla bağımsız grup ortancalarının karşılaştırılması amacıyla ise Kruskal-Wallis testi ve ardından çoklu karşılaştırma yöntemlerinden Dunn testi kullanıldı. Kategorik verilerin analizinde tabloların frekans durumuna ve tablodaki hücre sayısına göre Pearson ki-kare testi, Olabilirlik oran testi ve Fisher Exact test kullanıldı. Değişkenler arasındaki korelasyonlar Spearman rho sıra korelasyon katsayısı ile değerlendirildi.

İstatistik analiz sonuçları, kategorik değişkenler için n (%), sürekli değişkenler için ise ortalama \pm standart sapma, ortanca değer ve en küçük-en büyük değerler olarak ifade edildi. $p < 0.05$ düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Veri setinin analizinde SPSS 17.0 istatistik paket programı kullanıldı (SPSS Ver. 17.0, SSPS Inc, Chicago IL, USA).

4. BULGULAR

Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Alerji Bölümü'nde izlenen yaşları 6-16 yaş arasında, hafif veya orta persistan astımlı 40 çocuk (astım grubu) ile pediatri polikliniğine başvurmuş olan 32 sağlıklı çocuk (kontrol grubu) çalışmaya alındı. Astım grubundaki çocukların hepsi inhale kortikosteroid kullanmaktaydı. Astımlı çocukların yaş ortalaması 9.7 ± 2.9 (6-16, ortanca 9.5) yıl ve kontrol grubundaki çocukların yaş ortalaması 11.1 ± 3.1 (6-16, ortanca 12) yıldır. Astım grubunda 20 erkek, 20 kız; kontrol grubunda ise 15 erkek, 17 kız vardı (Tablo 4.1). Astım nedeniyle ortalama takip süresi 27.2 ± 23.3 (3-84, ortanca 24) aydır. Tanı yaşları 7.45 ± 3.1 (1-16, ortanca 6.8) yıldır (Tablo 4.2).

Astım ve kontrol grubunun ortalama total eozinofil sayıları sırasıyla 287 ± 251 (17-1060, ortanca 186.5) ve 124.9 ± 94.3 (13-453, ortanca 119); ortalama eozinofil yüzdeleri sırasıyla 3.8 ± 3.5 (1-18, ortanca 2.5) ve 1.7 ± 1.2 (0.2-6, ortanca 1.5) idi (Tablo 4.1). Gruplar ortalama total eozinofil sayısı ve eozinofil yüzdesi açısından karşılaştırıldığında astım grubundaki değerler kontrol gruba göre anlamlı yüksekti ($p < 0.01$). Astım grubundaki çocukların Total IgE düzeyleri ortalama 134.3 ± 180.2 (1-686 ku/L, ortanca 45) ku/L tespit edildi.

Astımlı çocukların 28'inde (%70) alerjik rinit, 30'unda (%75) atopi tespit edildi. Bu gruptaki çocukların 9'unun (%22.5) evinde sigara içiliyordu. Astım grubundaki çocukların ortalama FEV₁ değerleri 104.3 ± 13.9 , FEV₁/FVC değeri 95.4 ± 5.6 , FEF₂₅₋₇₅ 110 ± 21.7 idi (Tablo 4.2). Astım tanısıyla izlenen çocukların demografik özellikleri Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Astım ve kontrol grubundaki çocukların karşılaştırılması.

	Astım n=40	Kontrol n=32	P
Yaş (yıl) \pm SD	9.7 ± 2.9	11.1 ± 3.1	0.06
Cinsiyet (E/K)	20/20	15/17	
Vücut Kitle İndeksi \pm SD [VA (kg) / boy (m ²)]	19.9 ± 3.9	21.3 ± 4.8	0.209
Total eozinofil sayısı \pm SD	287 ± 251	124.9 ± 94.3 (n=26)	0.003
Eozinofil yüzdesi (%) \pm SD	3.8 ± 3.5	1.7 ± 1.2 (n=26)	0.006

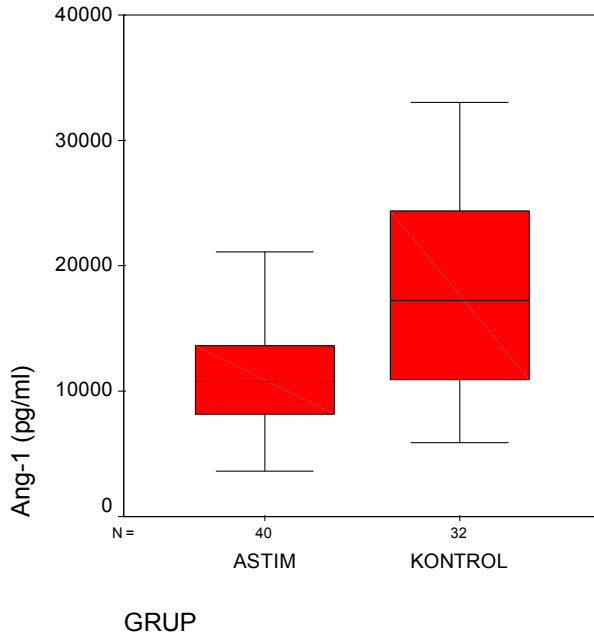
Tablo 4.2. Astımlı çocukların demografik özellikleri ve SFT parametreleri.

Yaş (yıl) ± SD (ortanca, min-max)	9.7±2.9 (9.5, 6-16)
Cinsiyet (E/K)	20/20
Vücut Kitle İndeksi ± SD (ortanca, min-max) [VA (kg) / boy (m ²)]	19.9±3.9 (20, 14-28)
Tanı yaşı (yıl) ± SD(ortanca, min-max)	7.45±3.1 (6.8, 1-16)
Hastalık süresi (ay) ± SD (ortanca, min-max)	27.2±23.3 (24, 3-84)
Atopi varlığı	30 (%75)
• Ev tozu akarı ve/veya küf mantarı n (%)	4 (%10)
• Polen - n (%)	12 (%30)
• Polen ile ev tozu akarı ve/veya küf mantarı - n (%)	14 (%35)
Alerjik rinit n (%)	28 (%70)
• Persistan - n (%)	16 (%40)
• İntermitan - n (%)	12 (%30)
Alerjik rinit semptom varlığı - n (%)	5 (%12.5)
Ailede astım - n (%)	16 (%40)
Ailede alerjik hastalık varlığı - n (%)	29 (%72.5)
Evde sigara maruziyeti - n (%)	9 (%22.5)
Evde hayvan varlığı – n (%)	5 (%12.5)
Total IgE (ku/L) ± SD (ortanca, min-max)	134.3±180.2 (45, 1-686)
Total eozinofil sayısı ±SD (ortanca, min-max)	287 ±251 (186, 17-1060)
Eozinofil yüzdesi (%) ± SD (ortanca, min-max)	3.8±3.5 (2.5, 1-18)
SFT parametreleri	
• FVC (%)±SD (Ortanca, min-max)	93,4±13.7 (92, 63 – 122)
• FVC (L) ±SD (Ortanca, min-max)	2.03±0.65 (1.99, 1.04-4.1)
• FEV ₁ (%) ±SD (Ortanca, min-max)	104,3±13.9 (104.4, 74-131)
• FEV ₁ (L) ±SD (Ortanca, min-max)	1.91±0.52 (1.8, 1.1-3.1)
• FEV ₁ /FVC ±SD (Ortanca, min-max)	95,4±5.7 (97, 77-100)
• FEF ₂₅₋₇₅ (%) ±SD (Ortanca, min-max)	110±21.8 (113, 65-170)
• FEF ₂₅₋₇₅ (L/sn) ±SD (Ortanca, min-max)	2.53±0.58 (2.5, 1.5-3.6)

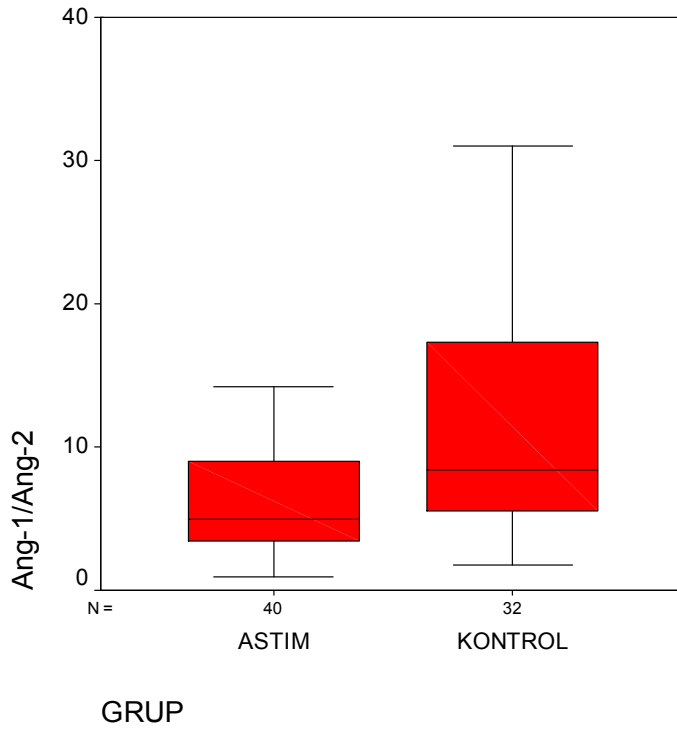
Astımlı çocukların serum Ang-1 düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşük bulundu ($p=0.002$) (Şekil 4.1, Tablo 4.3). Astımlı çocuklar kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Ang-1/Ang-2 oranlarının da istatistiksel olarak düşük olduğu saptandı ($p=0.006$) (Şekil 4.2). Ancak iki grup arasında serum Ang-2 düzeyleri açısından istatistiksel fark bulunmadı ($p>0.05$) (Şekil 4.3, Tablo 4.3).

Astımlı çocukların serum Ang-1 düzeyi ortalama $12498,5 \pm 7324,5$ pg/ml iken en yüksek $40027,1$ pg/ml ve en düşük $3585,6$ pg/ml bulundu (ortanca değer $10783,2$). Serum Ang-2 düzeyi ise ortalama $2490,4 \pm 1353,2$ pg/ml idi (ortanca değer $2262,7$) (Tablo 4.3).

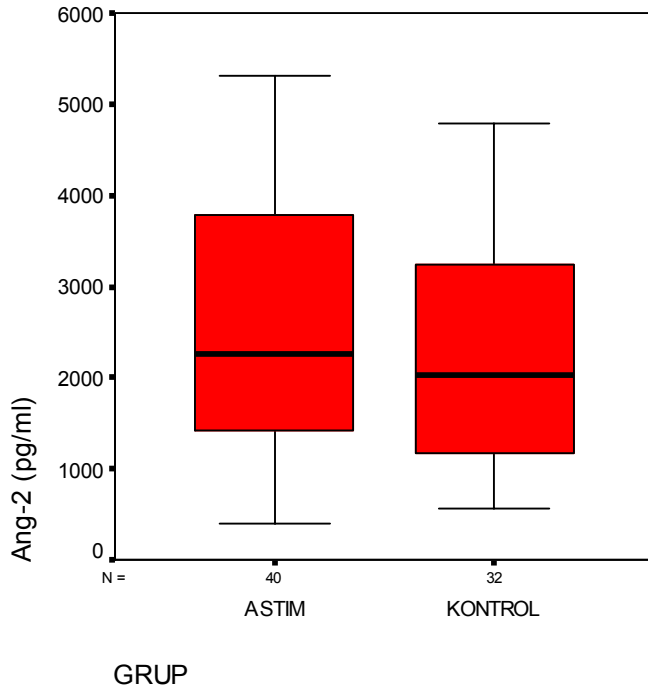
Kontrol grubundaki çocukların serum Ang-1 düzeyi ortalama $19686,7 \pm 11368,9$ pg/ml iken, en yüksek 54000 pg/ml; en düşük $5891,8$ pg/ml saptandı. Serum Ang-2 düzeyi ise ortalama $2223,9 \pm 1270$ pg/ml idi (ortanca değer 2025). Astım ve kontrol grubu için ortalama Ang-1/Ang-2 oranı sırasıyla $6,86 \pm 5,76$ ve $11,9 \pm 9,2$ idi (Tablo 4.3).



Şekil 4.1. Astım ve kontrol grubunun serum Ang-1 düzeylerinin karşılaştırılması.



Şekil 4.2. Astım ve kontrol grubunun serum Ang-1/Ang-2 oranlarının karşılaştırılması.

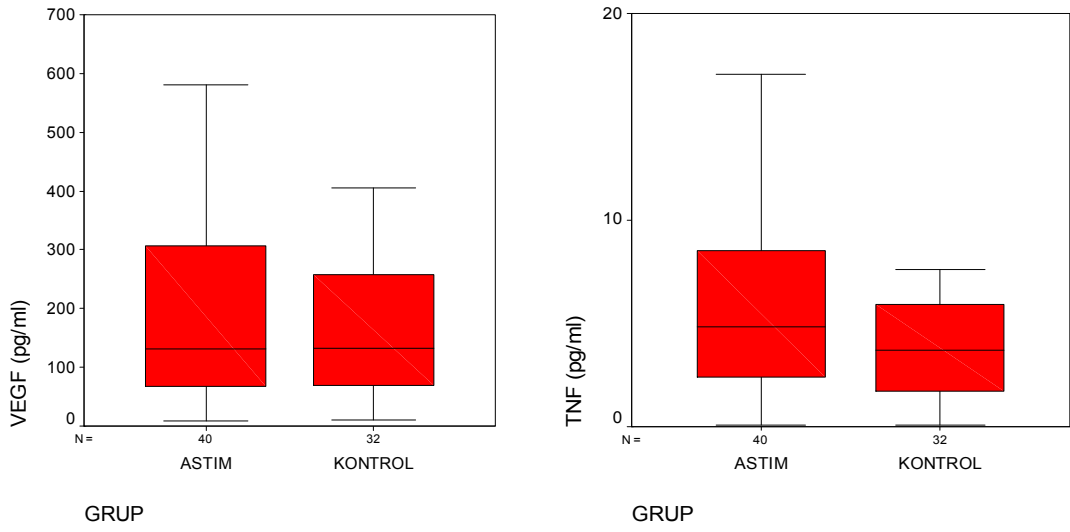


Şekil 4.3. Astım ve kontrol grubunun serum Ang-2 düzeylerinin karşılaştırılması.

Ortalama serum VEGF düzeyleri astım grubunda (243.5 ± 382.3 pg/ml) kontrol grubuna (188.3 ± 168.8 pg/ml) göre yüksek olmasına karşın fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Her iki gruptaki hastaların VEGF/Ang-2 oranları benzerdi (Tablo 4.3). Ortalama serum TNF- α düzeyleri değerlendirildiğinde astımlı çocuklarda 8.3 ± 11.8 pg/ml (ortanca değer 4.84), kontrol grubundaki çocuklarda 7.7 ± 19.6 pg/ml (ortanca değer 3.7) olarak bulundu (Tablo 4.3). İki grup arasında serum TNF- α düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi. İki grubun serum VEGF ve TNF- α düzeyleri açısından karşılaştırması Şekil 4.4'de verilmiştir.

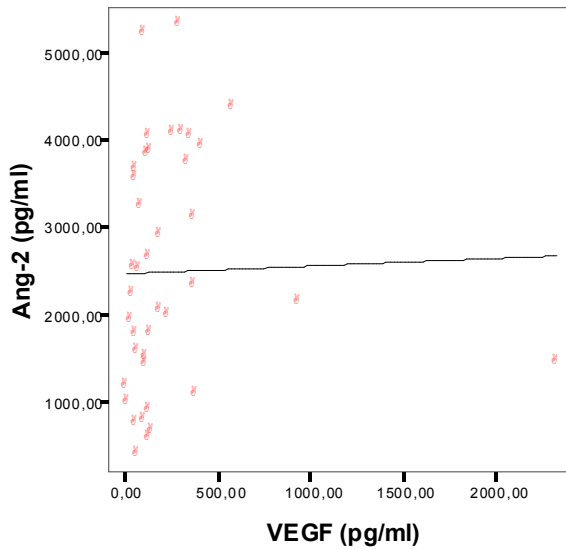
Tablo 4.3. Astım grubundaki çocukların serum Ang-1,2, VEGF, TNF- α düzeyleri, Ang-1/Ang-2 ve VEGF/Ang2 oranlarının kontrol grubuyla karşılaştırılması.

		ASTİM n=40	KONTROL n=32	P
Ang-1 (pg/ml)	Ortalama\pmSD	12498,5 \pm 7324.5	19686.7 \pm 11368.9	0.002
	ortanca (min-max)	10783.2 (3585.6-40027)	17203 (5891.8-54000)	
Ang-2 (pg/ml)	Ortalama\pmSD	2490,4 \pm 1353,2	2223,9 \pm 1270	0.397
	ortanca (min-max)	2262.7 (396.4-5311)	2025 (567-4783)	
Ang1/Ang2	Ortalama\pmSD	6,86 \pm 5.76	11.9 \pm 9.2	0.006
	ortanca (min-max)	4.99 (0.9-31.7)	8.4 (1.8-42.9)	
VEGF (pg/ml)	Ortalama\pmSD	243.5 \pm 382.3	188.3 \pm 168.8	0.45
	ortanca (min-max)	130.6 (8.6-2326)	133 (9.8-714.4)	
TNF-α (pg/ml)	Ortalama\pmSD	8.3 \pm 11.8	7.7 \pm 19.6	0.88
	ortanca (min-max)	4.8 (0.1-67)	3.7 (1.8-111.2)	
VEGF/Ang2	Ortalama\pmSD	0,13 \pm 0,26	0.12 \pm 0.16	0.92
	ortanca (min-max)	0.07 (0.01-1.6)	0.1 (0.001-0.8)	



Şekil 4.4. Astım ve kontrol grubunun serum VEGF ve TNF- α düzeylerinin karşılaştırılması.

Astımlı çocuklarda serum Ang-2 ile VEGF düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptandı (Spearman rho=0.335, p<0.05) (Şekil 4.5). Bunun dışında astım ve kontrol grubunda Ang-1, Ang-2, VEGF ve TNF- α düzeyleri, Ang-1/Ang-2, VEGF/Ang-2 oranları arasında istatistiksel anlamlı korelasyon bulunmadı (p>0.05).

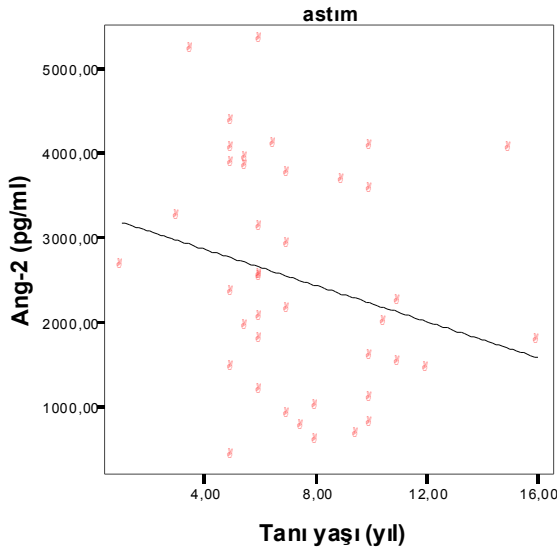


Şekil 4.5. Astım grubunda serum VEGF ile Ang-2 ilişkisi.

Her iki grupta yaş, total eozinofil sayısı, eozinofil yüzdesi ile serum Ang-1, Ang-2, VEGF, TNF- α düzeyleri, Ang-1/Ang-2, VEGF/Ang-2 arasında korelasyon gözlenmedi.

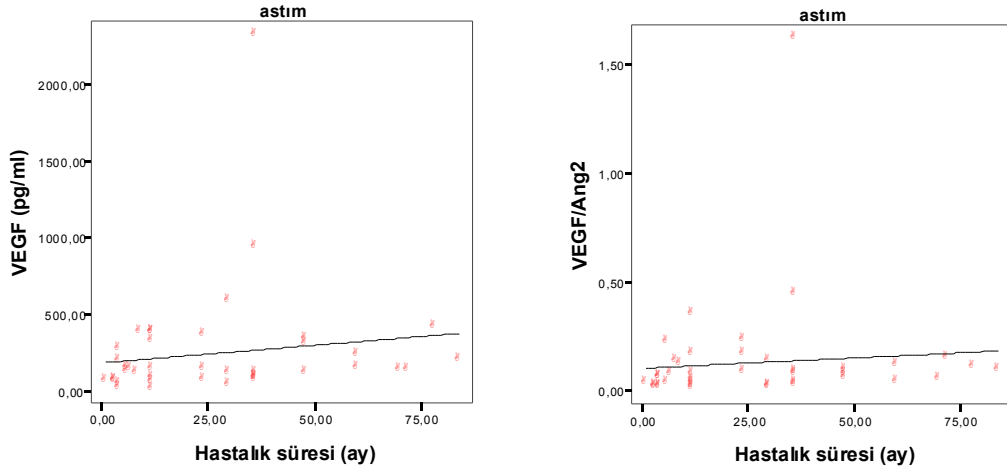
Astımlı çocuklarda serum Ang-1, Ang-2, VEGF, TNF- α düzeyleri, Ang-1/Ang-2, VEGF/Ang-2 oranları ile sigara maruziyeti, eşlik eden alerjik rinit, ailede astım olup olmaması arasında korelasyon bulunmadı ($p>0.05$).

Serum Ang-1 ve TNF- α düzeyi ile tanı yaşı ve hastalık süresi arasında korelasyon saptanmadı. Serum Ang-2 düzeyi ile hastalık süresi arasında ilişki yoktu. Ancak serum Ang-2 düzeyi ile tanı yaşı arasında negatif korelasyon olduğu gösterildi (Spearman rho = -0.322, $p<0.05$) (Şekil 4.6).



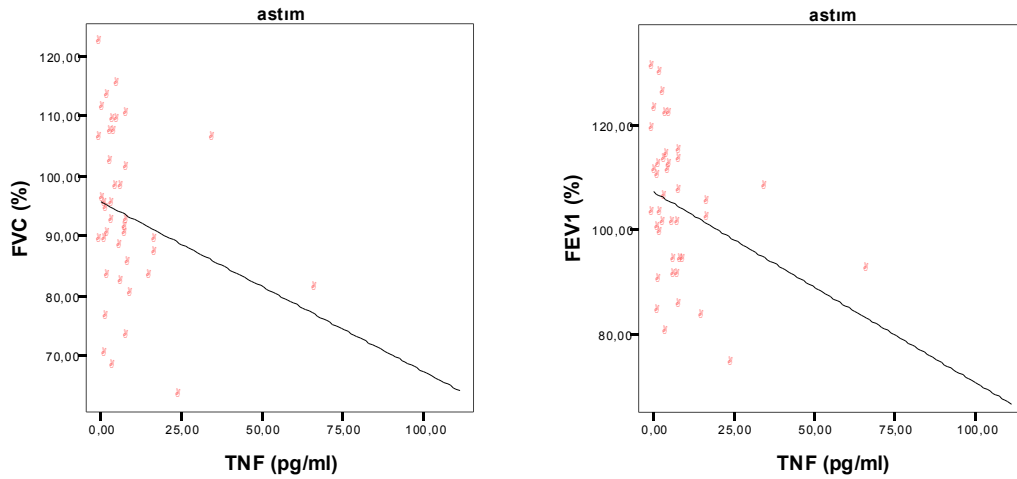
Şekil. 4.6. Astımlı çocuklarda serum Ang-2'nin tanı yaşı ile ilişkisi.

Serum VEGF düzeyi ile tanı yaşı arasında ilişki yoktu. Ancak serum VEGF düzeyi ve hastalık süresi arasında pozitif korelasyon saptandı (Spearman rho=0.331, $p<0.05$). Hastalık süresi ve VEGF/Ang-2 arasında da pozitif korelasyon olduğu görüldü (Spearman rho= 0.312, $p<0.05$) (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. Astımlı çocuklarda serum VEGF düzeyi ve VEGF/Ang-2 oranı ile hastalık süresi ilişkisi.

Solunum fonksiyon test parametreleri ile serum Ang-1, Ang-2, VEGF düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı. Benzer şekilde Ang-1/Ang-2 ve VEGF/Ang-2 oranları ile SFT parametreleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı. Sadece serum TNF- α ile FVC (Spearman rho= -0.314, p<0.05) ve FEV₁ (Spearman rho= -0.387, p<0.05) değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon saptandı (Şekil 4.8).

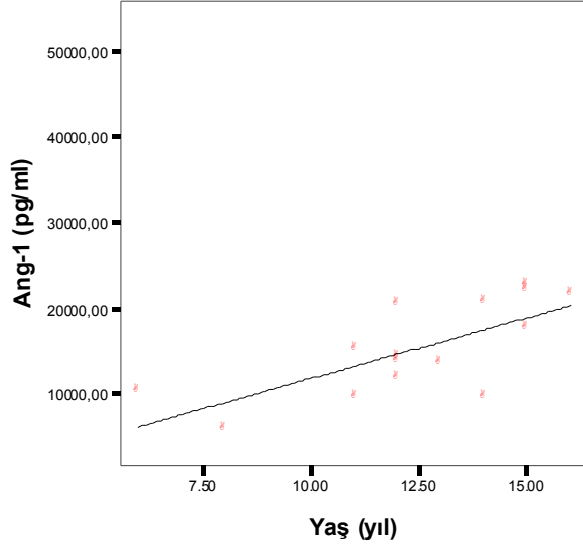


Şekil 4.8. Astımlı çocuklarda serum TNF- α 'nın FVC ve FEV₁ ile ilişkisi.

Astımlı erkek ve kız çocukların yaş ortalaması sırasıyla 9.2 ± 2.4 ve 10.3 ± 3.3 yıldır. Hastalık süresi erkek çocuklarda 33 ± 25.2 ay, kızlarda ise 21.4 ± 20.3 aydır. Hastalık süreleri açısından kızlar ve erkekler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur. Astım tanı yaşı erkeklerde 6.5 ± 2.7 yaş, kızlarda ise 8.4 ± 3.2 yaştı ($p<0.05$). Gruplar cinsiyetlere göre değerlendirildiğinde astım grubundaki kızlar erkeklerle karşılaştırıldığında serum Ang-1, Ang-2, VEGF, TNF- α düzeyleri, VEGF/Ang-2 ve Ang-1/Ang-2 oranları açısından fark görülmedi. Kontrol grubundaki erkeklerin serum Ang-1 düzeyi bu gruptaki kızlara göre düşüktü ($p<0.05$). Serum Ang-2, VEGF ve TNF- α düzeyleri benzer bulundu ($p>0.05$) (Tablo 4.4). Astım grubundaki erkekler ile kontrol grubundaki erkekler karşılaştırıldığında serum Ang-1, Ang-2, VEGF, TNF- α düzeyleri, VEGF/Ang-2 ve Ang-1/Ang-2 oranları açısından fark yoktur (Tablo 4.4). Kontrol grubunda erkeklerde yaş ile serum Ang-1 düzeyi arasında pozitif korelasyon saptandı (Spearman rho=0.358, $p<0.01$) (Şekil 4.9).

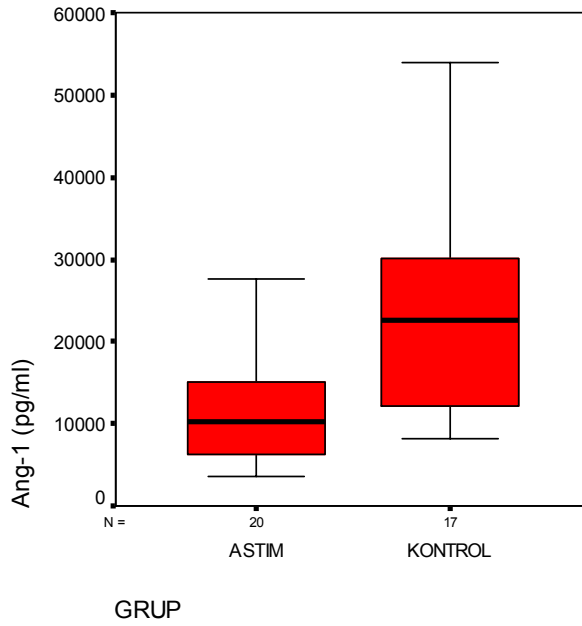
Tablo 4.4. Astım ve kontrol grubundaki çocukların serum Ang-1,2, VEGF, TNF- α düzeyleri, Ang-1/Ang-2 ve VEGF/Ang-2 oranlarının cinsiyetlere göre dağılımı.

		Erkekler		P	Kızlar		P
		Astım n=20	Kontrol N=15		Astım n=20	Kontrol n=17	
Ang-1 (pg/ml)	Ortalama \pm SD	13522 \pm 8393.5	15235 \pm 5344	0.50	11474.3 \pm 6120.6	23614 \pm 13801	0.001
	ortanca (min-max)	11160,8 (6755-40027)	14266 (5892-22515)		10279.7 (3586-27519)	22637 (8181-54000)	
Ang-2 (pg/ml)	Ortalama \pm SD	2642.7 \pm 1479.9	2345 \pm 1092	0.52	2338 \pm 1232.7	2117 \pm 1434	0.62
	ortanca (min-max)	2992.1 (396-5198)	2389 (663-4123)		2046.6 (649-5311)	1627 (567-4783)	
Ang1/ Ang2	Ortalama \pm SD	7.5 \pm 6.8	9.2 \pm 7.6	0.50	6.2 \pm 4.6	14.3 \pm 10.1	0.003
	ortanca (min-max)	5.5 (2-32)	6.9 (1.8-31)		4.1 (0.9-20)	9.9 (4.5-43)	
VEGF (pg/ml)	Ortalama \pm SD	301.7 \pm 498.7	230 \pm 202	0.61	185.2 \pm 210.1	151 \pm 127.5	0.56
	ortanca (min-max)	136.3 (12-2326)	177 (11-714)		123 (8.6-936)	106 (9.8-405)	
TNF- α (pg/ml)	Ortalama \pm SD	9.3 \pm 14.9	12 \pm 28	0.72	7.2 \pm 7.6	3.8 \pm 2.3	0.09
	ortanca (min-max)	3.7 (0.1-66.9)	2.8 (0.1-111)		5.5 (0.2-35)	4.1 (0.1-7.4)	
VEGF/ Ang2	Ortalama \pm SD	0.2 \pm 0.3	0.15 \pm 0.2	0.95	0.1 \pm 0.1	0.1 \pm 0.1	0.98
	Ortanca (min-max)	0.1 (0.01-1.6)	0.08 (0.001-0.8)		0.05 (0.01-0.4)	0.06 (0.001-0.5)	



Şekil 4.9. Kontrol grubundaki erkeklerde yaş ile serum Ang-1 ilişkisi.

Astım grubundaki kızlar kontrol grubundaki kızlarla karşılaştırıldığında serum Ang-1 düzeyleri ve Ang-1/Ang-2 oranları astımlı kızlarda istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşüktü (Şekil 4.10). Astım grubundaki kızların serum Ang-1 düzeyleri kontrol grubundaki kızların yaklaşık yarısı kadardı ($p=0.001$) (Tablo 4.5).



Şekil 4.10. Kızlarda serum Ang-1 düzeyinin gruplara göre dağılımı.

Sigara maruziyeti olan ve olmayan astımlı çocukların serum Ang-1, Ang-2, VEGF, TNF- α düzeyleri, Ang-1/Ang-2, VEGF/Ang-2 oranları benzer bulundu.

Astımlı çocuklarda atopi varlığı göz önüne alındığında atopisi olanlar ile olmayanların ortalama serum Ang-1, Ang-2, VEGF, TNF- α düzeyleri ve Ang-1/Ang-2, VEGF/Ang-2 oranları arasında fark görülmedi (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. Atopisi olan ve atopisi olmayan astımlı çocukların serum Ang-1,2, VEGF, TNF- α düzeyleri, Ang-1/Ang-2 ve VEGF/Ang2 oranlarının dağılımı.

		Atopi (+) n=30	Atopi (-) n=10	p
Ang-1 (pg/ml)	Ortalama\pmSD	13451.8 \pm 7927.8	9638.6 \pm 4224.5	0.16
Ang-2 (pg/ml)	Ortalama\pmSD	2589.2 \pm 1423.4	2193.9 \pm 1129.7	0.43
Ang1/Ang2	Ortalama\pmSD	7.3 \pm 6.3	5.7 \pm 3.7	0.45
VEGF (pg/ml)	Ortalama\pmSD	242 \pm 418.8	248 \pm 261	0.96
TNF-α (pg/ml)	Ortalama\pmSD	7.7 \pm 12.5	9.9 \pm 9.7	0.62
VEGF/Ang2	Ortalama\pmSD	0.13 \pm 0.29	0.13 \pm 0.12	0.96

5. TARTIŞMA

Hava yolundaki kronik inflamasyonun neden olduğu yapısal değişiklikler, astımın en belirgin özellikleri olarak karşımıza çıkmaktadır. Astım etiyopatogenezi henüz tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Son yıllarda angiopoietinlerin hem inflamasyon hem de remodelling yanıtının düzenlenmesinde önemli rolü olduğu farkedilmiştir. Literatürde angiopoietinlerle ilgili çalışmalar hayvan modellerinde ve erişkin insanlarda olmasına karşın, astımlı çocuklarda bu konuda çalışma yoktur.

Çalışmamızda hafif veya orta persistan astım tanısıyla izlenen çocuklardaki serum Ang-1 düzeyinin sağlıklı çocuklara göre istatistiksel olarak anlamlı düşük olduğunu belirledik. Angiopoietin-1 anti-inflamatuar özelliklere sahiptir ve damar yapısının korunmasından sorumludur. Angiopoietin-1 düzeyinin azalması sonucunda bu koruyucu özelliğin kaybolduğu ve bu durumun astım patogenezinde katkıda bulunabileceği düşünülmüştür. Simoes ve arkadaşları (112), bizim çalışmamızda serumda saptadığımız gibi, astımlı deney hayvanlarının akciğerlerinde Ang-1 düzeylerini düşük bulmuşlardır. Bu çalışmada, alerjik inflamasyon sırasında Ang-1'in etkilenebileceğini hipotez olarak öne sürülmüş, OVA ile duyarlandırılmış farelerin akciğerlerinde Ang-1 mRNA ve protein düzeylerinin düşük olduğunu tespit etmişlerdir.

Angiopoietin-1 düzeylerinin azalmasında astımın inflamasyon sürecinde görev alan birçok mediatörün etkili olabileceği öne sürülmüştür. Astımda artan TNF- α , TGF- β 1, IL-1 β ve nitrik oksitin, Ang-1 düzeyinde azalmaya neden olduğu gözlenmiştir. Aynı zamanda TNF- α 'nın insan endotel hücrelerinde Ang-1 mRNA'sında azalmaya yol açtığı da gösterilmiştir (115,116). Özellikle TNF- α ve IFN- γ birlikte olduğunda endotel hücrelerinde NF-KB ve NO-bağımlı olarak Ang-1 salınımının azaldığı saptanmıştır (118). Bu bilgiler astımda inflamasyon sitokinlerinin Ang-1'in azalmasında etkili olduğunu desteklemektedir.

Çalışmamızın aksine Feltis ve arkadaşları (89) astımlı bireylerin hava yollarındaki damarlarda Ang-1'in artmış olduğunu saptamışlardır. Kanazawa ve arkadaşları da (119) astımlı hastaların balgamında Ang-1 düzeylerinin artmış olduğunu ve hava yolu vasküler permeabilite indeksi ile Ang-1 düzeyi arasında

negatif korelasyon olduğunu tespit etmişlerdir. Kanazawa ve arkadaşlarının üç çalışmasından birinde en az altı aydır İKS alan hastaların balgamında Ang-1 düzeyi sağlıklı kontrol grubuyla benzer bulunurken, montelukast tedavisinin Ang-1 düzeylerini etkilemediği tespit edilmiştir (119). Diğer iki çalışmada ise İKS öncesi ve sonrası Ang-1 düzeyleri incelenmiş ve İKS tedavisi sonrası balgamda Ang-1 düzeylerinin daha düşük olduğu gösterilmiştir (163,164). Toluwalope ve arkadaşları (130) hava yollarında aşırı duyarlılık ve remodelling bulunan farelerin hava yolu epitel hücrelerinde Tie-2 ekspresyonunun artmış olduğunu saptamıştır. Bu artışın astım remodelling şiddeti ile korelasyon gösterdiği ve bronşial alveolar sıvıda Ang-1 protein düzeyinin arttığı rapor edilmiştir. Tseliou ve arkadaşlarının (165) erişkin astımlılarda yaptığı bir çalışmada ise, hastalık şiddeti arttıkça balgamda Ang-1 düzeylerinin arttığı gösterilmiştir.

Çalışmalar arasında neden bu kadar farklılık olduğu irdelendiğinde, astımda inflamasyonun başlangıcında VEGF, TNF- α gibi sitokinlerin etkilerine bağlı olarak önce Ang-1'in azaldığı, daha sonra vasküler permeabilitenin onarılması için Ang-1 seviyelerinin normal seviyeye geldiği hatta daha da arttığı hipotezi oluşmuştur (112,113,166). Bu adaptasyon sürecinde vasküler permeabilitenin kısıtlanması ve homeostatik yanıtın sağlanması için Ang-1 düzeyinde değişiklikler oluşmakta ve bu durum çalışmalarda farklı sonuçlara neden olabilmektedir (113,166). Ayrıca, tanı yaşı ya da hastalık süresinin Ang-1 düzeylerini etkilemesi nedeniyle çocuklar ile erişkinler arasında farklılık ortaya çıkmış olabilir. Çalışmamızda Ang-1 düzeyinin düşük bulunmasının bir başka nedeni ise Ang-1 düzeylerinin serumda incelenmesi olabilir.

Astım ve kontrol grubundaki kızlar karşılaştırıldığında Ang-1 düzeyleri astım grubunda kontrol grubundaki kızlara göre yaklaşık iki kat daha düşük bulundu. Benzer ilişki astımlı ve kontrol grubundaki erkek çocuklar arasında gösterilemedi. Sağlıklı erkek çocukların Ang-1 düzeyleri sağlıklı kız çocuklara göre düşüktü. Ancak astımlı kız ve erkek çocukların Ang-1 düzeyleri benzer bulundu. Sağlıklı çocuklarda fark olmasına karşın astımlı çocuklarda cinsiyete bağlı fark görülmemiş olması astım sürecinde bu farkın ortadan kalktığını gösterebilir. Çalışmamızdaki sonuçlara göre sağlıklı erkek çocuklarda yaş arttıkça Ang-1 düzeyinin arttığı görüldü. Astımlı erkek ve kız çocukların Ang-1

düzeyleri arasında fark bulunmazken sağlıklı erkek çocukların Ang-1 düzeyinin sağlıklı kız çocuklara göre daha düşük olması ve yaşa bağlı olarak bu düzeylerde artış olması, puberte öncesi erkek çocukların astıma daha yatkın olmasında Ang-1'in rolü olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda Ang-1 antagonisti olan serum Ang-2 düzeyleri de değerlendirildi. Astım ve kontrol grubunda Ang-2 düzeyleri benzer bulundu. Literatürde astımlı erişkin hastalarda angiopietin düzeyi ile ilgili toplam beş çalışma saptanmıştır. Bu çalışmalarda astımlı hastaların balgamında angiopietin düzeyi incelenmiştir. Çalışmaların hepsinde balgamda Ang-2 düzeyi sağlıklı kontrollere göre yüksek bulunmuştur (119,147,163-165). Astımlı hastalarda sigaranın balgam angiopietin düzeyleri üzerine etkisinin değerlendirildiği bir çalışmada sigara içen astımlı hastaların balgamında Ang-1 ve Ang-2 düzeyleri sigara içmeyen astımlı hastalara göre yüksek bulunmuştur. İnhal steroid tedavisi sonrasında Ang-1 düzeyinin anlamlı şekilde azaldığı buna karşın iki grupta da balgam Ang-2 düzeylerinin tedaviye rağmen değişmediği saptanmıştır (163). Tseliou ve arkadaşlarının (165) yaptığı bir çalışmada, ciddi refrakter astım hastalarının balgam Ang-1 ve Ang-2 düzeylerinin orta şiddetli astım hastalarından yüksek olduğu, aynı zamanda her iki gruptaki Ang-1 ve 2 düzeylerinin sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek olduğu bulunmuştur. Ayrıca Ang-2 düzeyinin hem hava yolu vasküler permeabilite indeksi, hem de egzersiz ilişkili bronkospazm ile pozitif korelasyon gösterdiği rapor edilmiştir (119,164). Benzer şekilde egzersizin neden olduğu FEV₁'deki azalma ile Ang-2 düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (164). Bu durum, inflamasyon sırasında plazmanın damar dışına sızması ve hava yolu ödemeine yol açması ile açıklanmaktadır. İnflamatuvar cevabın derecesi ile orantılı olarak mikrovasküler geçirgenliğin etkilenmesi beklenmektedir. Kanazawa ve arkadaşları (119,163), yaptığı iki çalışmada montelukast tedavisi sonrasında Ang-2 düzeylerinde azalma olduğunu, ancak İKS tedavisi ile Ang-2 düzeylerinin etkilenmediğini tespit etmiştir. Bizim çalışmamızda ise Ang-2 düzeyi sağlıklı kontrollerden farklı bulunmamıştır. Hastalarımızın İKS tedavisi altındayken incelenmiş olması bu sonucun en önemli nedeni olabilir. Ayrıca

hastaların çocuk yaş grubunda ve hafif-orta persistan astımlı olmaları ve Ang-2'ye balgamda değil serumda bakılması da nedenler arasında düşünülebilir.

Bhandari ve arkadaşları (167) erişkin hastalarda akut akciğer hasarı varlığında plazma ve alveolar ödem sıvısında Ang-2 düzeylerinde artış olduğunu rapor etmiştir. Angiopoietin-1 ve Ang-2 arasındaki dengenin Ang-2 tarafına kayması, Tie-2 fosforilasyonunun azalması ve böylece Tie-2'nin koruyucu etkisinin ortadan kalkması ile sonuçlanmaktadır. Çalışmalarda Tie-2 sinyalinin endotelin geçirgenliğine etkisinin belirlenmesinde Ang-1/Ang-2 oranının Ang-2 düzeyinden daha önemli olduğu belirtilmiştir (163,164,168). Çalışmamızda serum Ang-1/Ang-2 oranı kontrol gruba göre düşük bulundu. Serum Ang-1/Ang-2 oranının düşük olması, Ang-2'nin daha yüksek oranda Tie-2 reseptörlerine bağlanmış olabileceğini ve sinyal yolağının bu yönde ilerlediğini desteklemektedir. Angiopoietin-2'nin antagonistik davranışı anjiogenezin başlamasında önemli olan damar denge durumunun bozulmasına ve damarların VEGF gibi diğer anjiogenik büyüme faktörlerine daha duyarlı hale gelmesine neden olmaktadır (83). Toluwalope ve arkadaşları (140) astım hava yolu epitelinde Tie-2 reseptör sayısının ve Ang-2 salınımının arttığını ve bunun hava yolundaki remodelling şiddeti ile ilişkili olduğunu saptamıştır. Hafif ve orta şiddetteki remodellingde bile Tie-2 ve Ang-2 ekspresyonunun artmış olması, Tie2 aktivitesinin hem remodellingin başlangıcında hem de inflamasyon ile ilişkili olarak remodellingin ilerlediği dönemde etkili olduğunu düşündürmüştür (140). Çalışmamızda da Ang-1/Ang-2 oranının düşük bulunması astımlı çocuklarda atak olmadığı dönemlerde bile endotelin geçirgenliğinin artmış olabileceğini göstermektedir. Dengenin Ang-2 yönünde olması hastalık semptomları kontrol altında olduğu halde remodellingin devam ettiğini düşündürmektedir.

İnhale kortikosteroid tedavisi ile Ang-1 düzeylerinin azaldığını ilk kez Kanazawa ve arkadaşları saptamıştır (119). Bu çalışmada, indüklenmiş balgamda Ang-1, Ang-2 ve VEGF düzeyleri sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Bu değerlere astım kontrol tedavisine başlamadan önce bakılmış olup 12 haftalık flutikazon tedavisi sonrasında Ang-1 ve VEGF düzeylerinin tedavi öncesine göre azalmış olduğu, Ang-2 düzeylerinde ise

değişiklik olmadığı, 12 haftalık montelukast tedavisi ile VEGF ve Ang-2 düzeylerinin azaldığı saptanmıştır. Aynı araştırmacıların 2008 yılında yaptıkları başka bir çalışmada ise, 6 aydan daha uzun süredir inhale steroid kullanmakta olan astımlı hastalarda balgam Ang-1 düzeyinin kontrol grubuna göre farklı olmadığı, ancak balgam Ang-2 düzeylerinin kontrol grubuna göre belirgin yüksek olduğu saptanmıştır (164).

Çalışmamızda astımlı çocukların hepsi en az üç aydır sadece İKS kullanmaktaydı. Angiopietin-1 düzeyleri kontrol grubuna göre belirgin düşük bulunurken Ang-2 düzeyleri kontrol grubuyla benzerdi. Çalışmamız Kanazawa ve arkadaşlarının yaptığı araştırmalarla birlikte incelendiğinde Ang-1 ile ilişkili benzer sonuçlar olmasına karşın Ang-2 düzeyinde farklı sonuçlar olduğu ve Ang-2'nin İKS tedavisinden etkilenmediği görülmektedir (112,163,164). Bu sonuçlar, çalışmaların farklı şekilde planlanmış olmasından kaynaklanıyor olabilir. Astımlı çocuklarda atak olmadığı ve semptomlar kontrol altında olduğunda ve İKS kullanımına rağmen Ang-1 ve Ang-1/Ang-2 düşüklüğü, her ne kadar Ang-2 düzeyleri yüksek olmasa da dengenin Ang-2 lehine olduğunu göstermektedir. Sonuçta Ang-2 düzeyinden çok Ang-1/Ang-2 oranının incelenmesinin daha uygun olduğu görülmektedir. Bu nedenle alerjen, enfeksiyon ajanı, sigara gibi faktörler veya hipoksi gibi uyarılarda inflamasyon derecesinin daha da artacağı ve anjiogeneze yatkınlık olması ihtimalinin artacağı göz önüne alınmalıdır. Astımlı çocuklarda İKS tedavisine rağmen Ang-1 düzeyinin ve özellikle Ang-1/Ang-2 oranının düşük olması, inflamasyonun devam etmesi ve vasküler sızıntının önlenememesi ile remodellinge katkıda bulunduğunu düşündürmektedir. Angiopietin-1 düşük olduğunda, Ang-2'nin Ang-Tie reseptör sistemi üzerindeki negatif etkisini daha kolay ve rahat bir şekilde gösterdiği görüşü ileri sürülebilir. Bu bulgular inhale steroid tedavisi ile astım semptomlarının sadece kontrol altında tutulabildiği, ancak hastalığın ilerleyişinin engellenemediği düşüncesini ortaya çıkarmaktadır.

Mikrovasküler remodellingde aktif role sahip olan VEGF'in hava yolunda artış göstermesi anormal damarların oluşması ve dokuda ödem gelişmesi ile sonuçlanmaktadır (89,169). İlk kez Hoshino ve arkadaşları (143) tarafından astımda VEGF'in arttığı bulunmuştur. Feltis ve arkadaşları (89) hava yolu

damarlarında VEGF boyamasının ve bronşial alveolar lavajda VEGF düzeylerinin artış gösterdiğini saptamıştır. Vascular endothelial growth factor'ün artmış olması subepitelyal damarlanma artışı ile açıklanmıştır. Diğer çalışmalarda astımlı hastaların balgamında Ang-1, Ang-2 ve VEGF düzeyleri yüksek bulunmuştur (119,145,147,164,165). Bu bulgular VEGF ve Ang-2'nin birlikte veya birbirini takiben yükseldiğini düşündürmektedir. Çocuklarda akut atak sırasında balgamda VEGF ve anjiogenik faktörlerden biri olan angiogenin düzeyleri değerlendirilmiş ve sağlıklı çocuklarla karşılaştırıldığında yüksek bulunmuştur (150). Astım şiddeti ve hava yolundaki darlıkla, VEGF ve angiogenin düzeylerinin korele olduğu gösterilmiştir (150). Çocuk ve erişkin hastalarda yapılan klinik çalışmalarda da İKS tedavisi sonrasında VEGF'in azaldığı gösterilmiştir (89,147,150,170).

Çalışmamızda astımlı çocuklar ve sağlıklı çocuklar arasında serum VEGF düzeyleri açısından farklılık görülmedi. Hastalarımızın İKS tedavisi altında olması nedeniyle VEGF düzeyinin diğer çalışmalardaki gibi azaldığı ve kontrol grubu ile benzer olduğu düşünüldü. Ayrıca hastalarımızın astımlarının kontrol altında olması ve en az 3 aydır atak geçirmediği dönemde olması da buna neden olabilir.

Angiopietinler ve VEGF'nin vasküler remodelling olayında koordine ve birbirlerini tamamlayıcı rolleri vardır. Bu nedenle astımda VEGF ve Ang-2 düzeylerinin yanı sıra VEGF/Ang-2 oranlarının değerlendirilmesinin daha önemli olduğu görüşü ortaya çıkmıştır (147). Yüksek VEGF ve Ang-2 düzeyleri damarlanmanın arttığını, damar denge durumunun bozulduğunu ve vasküler geçirgenliğin artmış olduğunu gösterir. Havayolu vasküler remodellinginin değerlendirilmesi için sadece VEGF değil Ang-2 düzeyinin de birlikte değerlendirilmesi yararlı olacaktır. Çalışmamızda da astımlı çocuklarda VEGF ile Ang-2 düzeyleri arasında pozitif korelasyon olduğu görüldü. Nomura ve arkadaşları da (147) astımlı havayollarında VEGF ve Ang-2'nin vasküler remodellingde önemi olduğunu saptamıştır. Angiopietin-2 düzeylerinin VEGF düzeyleri ile ilişkili olduğu, tedavi öncesi VEGF ve Ang-2 düzeyleri ile VEGF/Ang-2 oranının kontrol gruba göre daha yüksek olduğunu saptanmıştır. Sekiz haftalık beklametazon tedavisi sonrası VEGF düzeyleri belirgin şekilde

düşerken Ang-2 düzeylerinin değişmediğini tespit edilmiştir. VEGF/Ang-2 oranı da aynı oranda azalmış olup, kontrol grubuna yakın sonuçlar elde edilmiştir. Bizim çalışmamızda VEGF/Ang-2 oranları astım ve kontrol grubu arasında farklılık göstermiyordu. Bu durum astımlı hastalarımızın İKS tedavisi altında olması ile açıklanabilir. Çalışmamızda ayrıca hastalık süresi ile serum VEGF düzeyleri arasında pozitif korelasyon olduğunu saptandı. Bu nedenle hastalık sürecinde VEGF'in remodelling ve anjiogenezi giderek arttırdığı düşünülebilir.

Tumor Nekrosis Factor- α ya da VEGF gibi egzogen bir uyarı varlığında inflamatuvar yanıt ile anjiogenez uyarılır ve Ang-2 salınımının daha da artmasına neden olur. Tumor necrosis factor- α ve IFN- γ , Ang-1'in salınımını azaltır. Angiopietin-1 ise TNF- α 'ya ters yönde etki eder. Bu bilgiler ışığında çalışmamızda Ang-1, Ang-2, VEGF ile TNF- α arasında korelasyon olup olmadığı araştırıldı, ancak pozitif veya negatif bir korelasyon gözlenmedi. Walker ve arkadaşları (161) astımlı hastaların hava yollarında TNF- α 'nın, Ying ve arkadaşları (159) astımlı hastaların hava yolu lavajında TNF- α mRNA'sının artmış olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca alerjik astımı olan bireylerde alerjene maruziyetten 24 saat sonra ve astım atağında TNF- α 'nın arttığı da tespit edilmiştir (160,171). İnhalasyon kortikosteroid tedavisi alan astımlı hastalarda TNF- α düzeyi daha düşük bulunmuştur (172,173). Çalışmamızda astımlı çocukların serum TNF- α düzeyleri değerlendirildiğinde sağlıklı çocuklara göre farklılık olmadığı saptandı. Astımda TNF- α artışı beklenmesine rağmen bizim çalışmamızda hastaların hafif veya orta persistan astımlı çocuklar olması, semptomlarının en az üç aydır kontrol altında olması ve İKS kullanıyor olmaları nedeniyle serum TNF- α düzeylerinin kontrol grubuyla benzer olduğu düşünüldü.

Çalışmamızda aynı zamanda TNF- α ile FEV₁ arasında negatif korelasyon tespit edildi. Thomas ve arkadaşları (154) tarafından TNF- α düzeyindeki yükselmenin bronşial hiperreaktivite şiddetinde artışla seyrettiği saptanmıştır. Bu bulgular astım patogenezi anahtar role sahip olan TNF- α 'nın hava yollarında inflamasyona neden olarak solunum fonksiyonlarını etkileyebileceğine işaret edebilir.

Hava yolundaki remodelling inflamasyon ile direk ilişkili gibi görünmektedir. Mikrovasküler remodelling en çok inflamasyon alanlarında olmaktadır. İnflamasyona neden olan faktörler dolaylı olarak hava yolu remodellingini de arttırmaktadır. Bu duruma sebep olan sitokin ve moleküllerin belirlenmesi önem kazanmıştır. Endotel, perisitler ve diğer hücreler sürekli iletişim halindedir. Angiopoietin-1, Ang-2, VEGF ve TNF- α arasında da denge vardır. Ancak astım gibi kronik inflamatuvar hastalıklarda bu denge bozulmuş olduğundan sadece hastalık alevlenmelerinde değil hastalık kontrol altındayken bile inflamasyon, anjiogenez ve remodellingin sürekli devam ettiği görüşü ortaya çıkmaktadır.

Hayvan model çalışmalarında Ang-1'in matür kan damarlarında inflamasyonun neden olduğu sızıntıyı ve VEGF aracılı geçirgenliği engellediği gösterilmiştir (120-122). Astım patogenezinde rolü olduğu düşünülen Ang-1'in lokal olarak uygulanmasının yeni bir tedavi seçeneği olabileceği düşünülmektedir. Bununla ilgili hayvan model çalışmaları devam etmektedir. Hayvan modellerinde lokal olarak Ang-1 uygulanmasının astımda görülen biyokimyasal ve fonksiyonel değişiklikleri önlediği saptanmıştır (112). Benzer şekilde Mc Carter ve arkadaşları (174) lipopolisakkarit ile akciğer hasarı oluşturulan hayvan modelinde Ang-1'in inflamasyonun neden olduğu morfolojik ve biyokimyasal endeksleri iyileştirdiğini göstermişlerdir. Başka bir çalışmada Adenovirüs ile Ang-1 taşınması sonucu farelerin akciğerlerinin histolojik görünümünde iyileşme olduğu ve bu farelere intraperitoneal olarak endotoksin verildiğinde lökosit infiltrasyonunun kısıtlandığı gösterilmiştir (175). Bu bulgular yeni tedavi seçeneklerine ışık tutabilir. Angiopoietin-1 (ya da Ang-2 antagonisti) verilmesinin damar bütünlüğünü sağlayarak remodelling gelişmesini engelleyebileceği ve Ang-1/Ang-2 oranını Ang-1 tarafına kaydırarak bozulmuş olan dengeyi düzeltebileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak çalışmamızda astımlı çocuklarda serum Ang-1 ve Ang-1/Ang-2 oranı düşük bulunmuştur. Angiopoietinlerin doku/balgam ve serumda düzeyleri farklılık göstermiş olabilir. Balgam çalışmaları daha değerli bilgi vermesine karşın çocuklarda indükte balgam almak pratikte oldukça zordur. Her ne kadar moleküllerin konsantrasyonlarına doku düzeyinde bakılmamış olsa da

Ang-1 düzeyi ve Ang-1/Ang-2 oranının belirgin düşük olmasının çok önemli bir bulgu olduğunu düşünmekteyiz. Doku/balgam ve serum Ang-1 ve 2 düzeyi ilişkisini değerlendirmek için eş zamanlı olarak serum ve balgam ve/veya akciğer dokusunda angiopoietin düzeyi bakılması ve bu düzeylerin karşılaştırılmasının daha uygun bir yaklaşım olacağı anlaşılmaktadır. Bu çalışmalarla astım sürecinin izleminde serum Ang-1, Ang-2 düzeyleri ve Ang-1/Ang-2 oranının kullanılması gündeme gelebilir.

Çalışmamızda astımlı çocuklarda Ang-1 düzeyi ve Ang-1/Ang-2 oranının kontrol grubuna göre düşük olması Ang-1'in astım oluşumu ve hastalığın izleminde önemli rolü olabileceğini düşündürmektedir. Ancak bu konuda daha geniş, hasta ve kontrol sayısının daha çok olduğu, uzun süreli izlem içeren daha kapsamlı prospektif çalışmalara gereksinim vardır.

6. SONUÇLAR

Çalışmamızda Eylül 2010 ve Temmuz 2011 tarihleri arasında Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Ankara Hastanesi pediatrik alerji polikliniğine başvuran yaşları 6 ile 16 yaş arasında değişen 40 hafif veya orta persistan astımlı çocuk ve pediatri polikliniğine başvuran 32 sağlıklı çocuk değerlendirilmiştir.

1. Astımlı çocukların serum Ang-1 düzeyleri sağlıklı çocuklara göre düşük bulundu.
2. Astımlı çocukların serum Ang-1/Ang-2 oranı sağlıklı çocuklara göre düşüktü.
3. Serum Ang-2 düzeyinin astımlı ve sağlıklı çocuklar arasında benzer olduğu saptandı.
4. Serum VEGF, TNF- α düzeyleri ve VEGF/Ang-2 oranı astımlı ve sağlıklı çocuklar arasında fark göstermedi.
5. Astımlı çocukların total eozinofil sayıları ve eozinofil yüzdesi sağlıklı çocuklara göre yüksekti.
6. Total eozinofil sayıları, eozinofil yüzdesi ile serum Ang-1, Ang-2, VEGF ve TNF- α düzeyleri arasında ilişki saptanmadı.
7. Astımlı çocukların 9 (%22.5)'unun evinde sigara içiliyordu.
8. Sigara maruziyeti olan ve olmayan astımlı çocukların serum Ang-1, Ang-2, VEGF ve TNF- α düzeyleri arasında fark görülmedi.
9. Atopisi olan ve olmayan astımlı çocukların serum Ang-1, Ang-2, VEGF ve TNF- α düzeylerinin benzer olduğu saptandı.
10. Astımlı çocuklarda serum Ang-2 ve VEGF düzeyleri arasında pozitif korelasyon vardı.
11. Tanı yaşı ile serum Ang-2 düzeyleri arasında negatif korelasyon saptandı.
12. Astımlı çocuklarda hastalık süresi arttıkça VEGF düzeyinin ve VEGF/Ang-2 oranının arttığı tespit edildi.

13. Astımlı çocuklarda serum TNF- α düzeyi ile FVC arasında negatif korelasyon olduğu görüldü.
14. Astımlı çocuklarda serum TNF- α düzeyi ile FEV₁ arasında negatif korelasyon vardı.
15. Astım grubundaki kızların serum Ang-1 düzeylerinin sağlıklı kızlara göre düşük olduğu saptandı.
16. Astım grubundaki kızların serum Ang-1/Ang-2 düzeyleri sağlıklı kızlara göre düşüktü.
17. Astımlı erkek ve astımlı kız çocuklar arasında Ang-1 düzeyleri açısından fark görülmedi.
18. Sağlıklı erkek çocukların serum Ang-1 düzeylerinin sağlıklı kız çocuklara göre düşük olduğu tespit edildi.
19. Sağlıklı erkek çocuklarda yaş arttıkça serum Ang-1 düzeylerinin arttığı saptandı.
20. Astımlı erkek çocukların serum Ang-2, VEGF, TNF- α düzeyleri astımlı kız çocuklarla benzer bulundu.
21. Sağlıklı erkek çocuklarla sağlıklı kız çocuklar arasında serum Ang-2, VEGF, TNF- α düzeyleri açısından fark görülmedi.
22. Çalışmamızda astımlı çocuklarda Ang-1 düzeyi ve Ang-1/Ang-2 oranının kontrol grubuna göre düşük olması Ang-1'in astım oluşumu ve hastalığın izleminde önemli rolü olabileceğini düşündürmektedir. Ancak bu konuda daha geniş, hasta ve kontrol sayısının daha çok olduğu, uzun süreli izlem içeren daha kapsamlı prospektif çalışmalara gereksinim vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Global Initiative for Asthma, Global Strategy for Asthma Management and Prevention, 2010. <http://www.ginasthma.org>.
2. Bousquet J, Jeffery PK, Busse WW, Johnson M, Vignola AM. Asthma: from bronchoconstriction to airways inflammation and remodeling. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:1720–1745.
3. Cohn L, Elias JA, Chupp GL. Asthma: mechanisms of disease persistence and progression. *Annu Rev Immunol* 2004;22:789–815.
4. NHLBI. National institute of Health: guidelines for the diagnosis and management of asthma. National Heart, Lung and Blood institute 1995:95-35S9.
5. Masoli M, Fabian D, Holt S, ve ark. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee Report. *Allergy* 2004;59(5):469-478.
6. Beasley R. The Global Burden of Asthma report, Global Initiative for asthma (GINA). <http://www.ginaasthma.org> 2004.
7. Asher MI, Montefort S, Bjorksten B, ve ark. Worldwide time trends in the prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinokonjunctivitis, and egzema in childhood. ISAAC phases 1 and 3 repeat multicountry cross-sectional surveys. *Lancet* 2006;368(9537):733-743.
8. Janson C, Anto J, Burney P, ve ark. The European Community Respiratory Health Survey: what are the main results so far? European Community Respiratory Health Survey II. *Eur Respir J* 2001;18(3):598-611.
9. Demir AU, Karakaya G, Bozkurt B, Sekerel BE, Kalyoncu AF. Asthma and allergic diseases in schoolchildren: third cross-sectional survey in the same primary school in Ankara, Turkey. *Pediatr Allergy Immunol* 2004;15:531-8.
10. Saraclar Y, Kuyucu S, Tuncer A, ve ark. Prevalence of asthmatic phenotypes and bronchial hyperresponsiveness in Turkish schoolchildren: an International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC)

- phase 2 study. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2003;91(5):477-84. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2004;92:87.
11. Tuktaş İ, Selçuk ZT, Kalyoncu AF. Prevalence of asthma-associated symptoms in Turkish children. *Turk J Pediatr* 2001;43(1):1-11.
 12. Beasley R, Keil U, Von Mutius E, ve ark. ISAAC Steering Committee. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinokonjunctivitis and atopic egzema: ISAAC. *Lancet* 1998;351:1225-1232.
 13. Von Mutius E. The rising trends in asthma and allergic disease. *Clin Exp Allergy* 1998; 28 Suppl 5:45-9:50-51.
 14. Senthilselvan A, Lawson J, Rennie DC, Dosman JA. Stabilization of an increasing trend in physician-diagnosed asthma prevalence in Saskatchewan, 1991 to 1998. *Chest* 2003;124(2):438-48.
 15. Von Hertzen L, Haahtela T. Signs of reversing trends in prevalence of asthma. *Allergy* 2005;60:283-92.
 16. Demir AU, Kalayci O, Kalyoncu AF. Time trend of asthma prevalence: ecological analysis of the investigations in schoolchildren in Turkey. 16th ERS Annual Congress, Munich, September 3, 2006. *Eur Respir J* 2006;28(Supplement 50): 240s.
 17. Wang L, McParland BE, Pare PD. The functional consequences of structural changes in the airways: implications for airway hyperresponsiveness in asthma. *Chest* 2003;123 (3 Suppl):356S-62S.
 18. Black JL. Asthma-more muscle cells or more muscular cells? *Am J Respir Crit Care Med* 2004;169:980-1.
 19. Busse WW, Lemanske RF. Asthma. *N Engl J Med* 2001;344:350-62.
 20. Galli SJ, Kalesnikoff J, Grimbaldston BA, ve ark. Mast cells astunable effector and immunoregulatory cells: recent advances. *Annu Rev Immunol* 2005;23:749-86.
 21. Kuipers H, Lambrecht BN. The interplay of dendritic cells. Th2 cells and regulatory T cells in asthma. *Curr Opin Immunol* 2004;16(6):702-8. review.
 22. Boyce JA. Mast cells: beyond IgE. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 111(1):24-32.Review

23. Robinson DS. The role of the mast cell in asthma: induction of airway hyperresponsiveness by interaction with smooth muscle? *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:58-65.
24. Sedgwick JB, Calhoun WJ, Gleich GJ, ve ark. Immediate and late airway response of allergic rhinitis patients to segmental antigen challenge: characterization of eosinophil and mast cell mediators. *Am Rev Respir Dis* 1991;144:1274-81.
25. Brightling CE, Bradding P, Symon FA, ve ark. Mast cell infiltration of airway smooth muscle in asthma. *N Eng J Med* 2002;346(22):1699-1705.
26. Kay AB, Phipps S, Robinson DS. A role for eosinophils in airway remodelling in asthma. *Trends Immunol* 2004;25(9): 477.
27. Larche M, Robinson DS, Kay AB. The role of T lymphocytes in the pathogenesis of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:450-63.
28. Shale DJ, Ionescu AA. Mucus hypersecretion: a common symptom, a common mechanism? *Eur Respir J* 2004;23:797-8.
29. Roche WR, Beasley R, Williams JH, Holgate ST. Subepithelial fibrosis in the bronchi of asthmatics. *Lancet* 1989;1:520-4.
30. Detoraki A, Granata F, Staibano S, Rossi FW, Marone G, Genovese A. Angiogenesis and lymphangiogenesis in bronchial asthma. *Allergy* 2010;65:946-58. Chung KF. Airway smooth muscle cells: contributing to and regulating airway mucosal inflammation? *Eur Respir J* 2000;15:961-8.
31. Chung KF. Airway smooth muscle cells: contributing to and regulating airway mucosal inflammation? *Eur Respir J* 2000;15:961-8.
32. Barnes PJ, Chung KF, Page CP. Inflammatory mediators of asthma: an update. *Pharmacol Rev* 1998;50(4):515-96.
33. Miller AL, Lukacs NW. Chemokine receptors: understanding their role in asthmatic disease. *Immunol Allergy Clin North Am* 2004;24:667-83.
34. Barnes PJ. Cytokine modulators as novel therapies for asthma. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2002;42:81-98.
35. James A. Airway remodelling in asthma. *Curr Opin Pulm Med* 2005;11:1-6.

36. Vignola AM, Mirabella F, Costanzo G. ve ark. Airway remodelling in asthma. *Chest* 2003;123(3 Suppl):417S-422S.
37. Hirst SJ, Martin JG, Bonacci JV, ve ark. Proliferative aspects of airway smooth muscle. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114(2 Suppl):S2-17.
38. McParland BE, Macklem PT, Pare PD. Airway wall remodeling: friend or foe? *J Appl Physiol* 2003;95:426-34.
39. Pare PD, McParland BE, Seow CY. Structural basis for exaggerated airway narrowing. *Can J Physiol Pharmacol* 2007;85:653-8.
40. Davies DE, Wicks J, Powell RM, Puddicombe SM, Holgate ST. Airway remodeling in asthma: new insights. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:215-26.
41. Durrani S, Viswanathan RK, Buse W. What effect does asthma treatment have on airway remodeling? Current perspectives. *Clinical reviews in allergy and immunology* 2011;128(3):439-448.
42. Hoshino M. Impact of inhaled corticosteroids and leukotriene receptor antagonists on airway remodeling. *Clin Rev Allergy Immunol* 2004;27:59-64.
43. Jenkins HA, Cool C, Szeffler SJ, Covar R, Brugman S, Gelfand EW, ve ark. Histopathology of severe childhood asthma: a case series. *Chest* 2003;124:32-41.
44. Barbato A, Turato G, Baraldo S, Bazzan E, Calabrese F, Panizzolo C, ve ark. Epithelial damage and angiogenesis in the airways of children with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;174:975-81.
45. Turato G, Barbato A, Baraldo S, Zanin ME, Bazzan E, Lokar-Oliani K, ve ark. Nonatopic children with multitrigger wheezing have airway pathology comparable to atopic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2008;178:476-82.
46. Payne DN, Rogers AV, Adelroth E, Bandi V, Guntupalli KK, Bush A, ve ark. Early thickening of the reticular basement membrane in children with difficult asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;167:78-82.
47. Saglani S, Malmstrom K, Pelkonen AS, Malmberg LP, Lindahl H, Kajosaari M, ve ark. Airway remodeling and inflammation in symptomatic

- infants with reversible airflow obstruction. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:722-727
48. Ober C. Perspectives on the past decade of asthma genetics. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:274-278.
 49. Holloway JW, Beghe B, Holgate ST. The genetic basis of atopic asthma. *Clin Exp Allergy* 1999;29(8):1023-32.
 50. Wiesch DG, Meyers DA, Bleecker ER. Genetics of asthma. *J Allergy Clin Immunol* 1999;104(5):895-901.
 51. Guler N, Kirerleri E, Ones U, ve ark. Leptin: does it have any role in childhood asthma? *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:254-259.
 52. Saint-Pierre P, Bourdin A, Chanez P, ve ark. Are overweight asthmatics difficult to control? *Allergy* 2006;61(1):79-84.
 53. Pakhale S, Doucette S, Vandemheen K, ve ark. A comparison of obese and nonobese people with asthma: exploring an asthma-obesity interaction. *Chest* 2010;137(6):1316-23.
 54. Levy ML, Fletcher M, Price DB, ve ark. International Primary Care Respiratory Group (IPCRG) Guidelines: diagnosis of respiratory diseases in primary care. *Prim Care Respir J* 2006;15:20-34.
 55. Toraks Derneği Ulusal Astım Tanı ve Tedavi Rehberi *Toraks Dergisi* 2009.
 56. Expert Panel Report 3(EPR-3): Guidelines for the diagnosis and management of asthma-Full Report 2007, *J Allergy Clin Immunol* 2007;120:s94-s138.
 57. Vater KZ, McBride JT. Pulmonary function testing in childhood asthma. *Immunol Allergy Clin North Am* 1998;18:133-48.
 58. Pellegrino R, Viegi G, Brusasco V, Croppo RO, Burgos F, Casaburi R. Interpretative strategies for lung function tests. *Eur Respir J* 2005; 26(5):948-68.
 59. Sears MR, Grene JM, Willian AR, Wiecek EM, Taylor DR, Flannery EM. A longitudinal population based cohort study of childhood asthma followed to adulthood. *N Engl J Med* 2003;349:1414-22.

60. Arshad SH, Tariq SM, Matthews S, Hakim E. Sensitization to common allergens and its association with allergic disorders at age 4 years: a whole population birth cohort study. *Pediatrics* 2001;108:E33.
61. Gergen PJ, Turkeltaub PC. The association of individual allergen reactivity with respiratory disease in a national sample: data from the second National Health and Nutrition Examination Survey, 1976-80 (NHANESII). *J Allergy Clin Immunol* 1992;90:579-88.
62. Kalyoncu F, Çöplü L, Selçuk ZT, ve ark. Survey of the allergic status of patients with bronchial asthma in Turkey: a multicenter study. *Allergy* 1995;50:451-455.
63. Lönnkvist K, Hellman C, Lundahl J, Halldén G, Hedlin G. Eosinophil markers in blood, serum, and urine for monitoring the clinical course in childhood asthma: Impact of budesonide treatment and withdrawal. *J Allergy Clin Immunology* 2001;107:812-817.
64. Lönnkvist K, Anderson M, Hedlin G, Svartengren M. Exhaled NO and eosinophil markers in blood, nasal lavage and sputum in children with asthma after withdrawal of budesonide. *Pediatr Allergy Immunol* 2004;15:351-358.
65. Taylor DR, Bateman ED, Boulet LP, ve ark. A new perspective on concepts of asthma severity and control. *Eur Respir J* 2008;32:545-554
66. Bateman ED. Severity and control of severe asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:519-21.
67. Rabe KF, Adachi M, Lai CKW, ve ark. Worldwide severity and control of asthma in children and adults : the global asthma insights and reality srveys. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:40-7.
68. Şekerel BE, Gemicioğlu B, Soriano JB. Asthma insights and reality in Turkey (AIRET) study. *Respir Med* 2006;100:1850-4.
69. Juniper EF, Kline PA, Vanzielegthem MA, ve ark. Effect of long-term treatment with an inhaled corticosteroid (budesonide) on airway hyperresponsiveness and clinical asthma in nonsteroiddependent asthmatics. *Am Rev Respir Dis* 1990;142:832-6.

70. Long-term effects of budesonide or nedocromil in children with asthma. The Childhood Asthma Management Program Research Group. *N Engl J Med* 2000;343:1054-63.
71. Jeffery PK, Godfrey RW, Adelroth E, et al. Effects of treatment on airway inflammation and thickening of basement membrane reticular collagen in asthma. A quantitative light and electron microscopic study. *Am Rev Respir Dis* 1992;145:890-9.
72. Pauwels RA, Lofdahl CG, Postma DS, ve ark. Effect of inhaled formoterol and budesonide on exacerbations of asthma. Formoterol and Corticosteroids Establishing Therapy (FACET) International Study Group. *N Engl J Med* 1997;337:1405-11.
73. Suissa S, Ernst P, Benayoun S, Baltzan M, Cai B. Low-dose inhaled corticosteroids and the prevention of death from asthma. *N Engl J Med* 2000;343:332-6.
74. Waalkens HJ, Van Essen-Zandvliet EE, Hughes MD, *Respir Med* 2008 Jan;102(1):143-9 ve ark. Cessation of longterm treatment with inhaled corticosteroid (budesonide) in children with asthma results in deterioration. The Dutch CNSLD Study Group. *Am Rev Respir Dis* 1993;148:1252-7.
75. Jayasiri B, Perera C. Successful withdrawal of inhaled corticosteroids in childhood asthma. *Respirology* 2005;10:385-8.
76. Dicipinigaitis PV, Dobkin JB, Reichel J. Antitussive effect of the leukotriene receptor antagonist zafirlukast in subjects with cough-variant asthma. *J Asthma* 2002;39(4):291-7.
77. Lipworth BJ. Leukotriene-receptor antagonists. *Lancet* 1999;353:57-62.
78. Drazen JM, Israel E, O'Byrne PM. Treatment of asthma with drugs modifying the leukotriene pathway. *N Engl J Med* 1999;340:197-206.
79. Pearlman DS, Chervinsky P, LaForce C, ve ark. A comparison of salmeterol with albuterol in the treatment of mild-to-moderate asthma. *N Engl J Med* 1992;327:1420-5.
80. Kesten S, Chapman KR, Broder I, ve ark. A three-month comparison of twice daily inhaled formoterol versus four times daily inhaled albuterol in the management of stable asthma. *Am Rev Respir Dis* 1991;144:622-5.

81. Newnham DM, McDevitt DG, Lipworth BJ. Bronchodilator subsensitivity after chronic dosing with eformoterol in patients with asthma. *Am J Med* 1994;97:29-37.
82. Nelson HS, Weiss ST, Bleecker ER, Yancey SW, Dorinsky PM. The Salmeterol Multicenter Asthma Research Trial: a comparison of usual pharmacotherapy for asthma or usual pharmacotherapy plus salmeterol. *Chest* 2006;129:15-26.
83. Fiedler U, Augustin HG. Angiopoietins: a link between angiogenesis and inflammation. *Trends Immunol* 2008;27(12):552-8.
84. Carmeliet P. Angiogenesis in life, disease and medicine. *Nature* 2005;438:932-936.
85. Cines DB, Pollak ES, Buck CA ve ark. Endothelial cells in physiology and in the pathophysiology of vascular disorders. *Blood* 1998;91:3527–3561.
86. Huber HL, Koessler KK. The pathology of bronchial asthma. *Arch Intern Med* 1922;30:689–760.
87. Macdonald IG. The local and constitutional pathology of bronchial asthma. *Ann Intern Med* 1932;6:253–277.
88. James AL, Pare PD, Hogg JC. The mechanics of airway narrowing in asthma. *Am Rev Respir Dis* 1989;139:242–246.
89. Feltis BN, Wignarajah D, Zheng L, Ward C, Reid D, Harding R, Walters EH. Increased vascular endothelial growth factor and receptors: relationship to angiogenesis in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2006;173:1201–1207
90. Lee CG, Link H, Baluk P, Homer RJ, Chapoval S, Bhandari V, Kang MJ, Cohn L, Kim YK, McDonald DM, ve ark. Vascular endothelial growth factor (VEGF) induces remodeling and enhances Th2-mediated sensitization and inflammation in the lung. *Nat Med* 2004;10:1095–1103.
91. Lee Y, Lee H. Vascular endothelial growth factor in patients with acute asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:1106–1108.
92. Lee YC, Kwak Y-G, Song CH. Contribution of vascular endothelial growth factor to airway hyperresponsiveness and inflammation in a murine model of toluene diisocyanate-induced asthma. *J Immunol* 2002;168:3595–3600.

93. Hashimoto M, Tanaka H, Abe S. Quantitative analysis of bronchial wall vascularity in the medium and small airways of patients with asthma and COPD. *Chest* 2005;127:965–972.
94. Salvato G. Quantitative and morphological analysis of the vascular bed in bronchial biopsy specimens from asthmatic and non-asthmatic subjects. *Thorax* 2001;56:902–906.
95. Partanen J, Armstrong E, Mäkelä TP, ve ark. A novel endothelial cell surface receptor tyrosine kinase with extracellular epidermal growth factor homology domains. *Mol. Cell. Biol* 1992;12:1698–1707.
96. Dumont DJ, Yamaguchi TP, Conlon RA, Rossant J, Breitman ML. Tek, a novel tyrosine kinase gene located on mouse chromosome 4, is expressed in endothelial cells and their presumptive precursors. *Oncogene* 1992;7:1471–1480.
97. Iwama A, Hamaguchi I, Hashiyama M ve ark. Molecular cloning and characterization of Mouse TIE and TEK receptor tyrosine kinase genes and their expression in hematopoietic stem cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun* 1993;195: 301–309.
98. Schnurch H, Risau W. Expression of tie-2, a member of a novel family of receptor tyrosine kinases, in the endothelial cell lineage. *Development* 1993;119:957–968.
99. Gale NW, Yancopoulos GD. Growth factors acting via endothelial cell-specific receptor tyrosine kinases: VEGFs, angiopoietins, and ephrins in vascular development. *Genes Dev* 1999;13:1055–1066.
100. Davis S, Aldrich TH, Jones PF, ve ark. Isolation of angiopoietin-1, a ligand for the TIE2 receptor, by secretion-trap expression cloning. *Cell* 1996;87:1161–1169.
101. Stratmann A, Risau W, Plate KH. Cell type-specific expression of angiopoietin-1 and angiopoietin-2 suggests a role in glioblastoma angiogenesis. *Am J Pathol* 1998;153:1459–1466.
102. Sugimachi K, Tanaka S, Taguchi K, ve ark. Angiopoietin switching regulates angiogenesis and progression of human hepatocellular carcinoma. *J Clin Pathol* 2003;56:854–860.

103. Thurston G, Rudge JS, Ioffe E, Zhou H, Ross L, Croll SD, Glazer N, Holash J, McDonald DM, Yancopoulos GD. Angiopoietin-1 protects the adult vasculature against plasma leakage. *Nat Med* 2000;6:460–463.
104. Kim I, Moon S-O, Park SK, Chae SW, Koh GY. Angiopoietin-1 reduces VEGF-stimulated leukocyte adhesion to endothelial cells by reducing ICAM-1, VCAM-1 and E-selectin expression. *Circ Res* 2001;89:477–479.
105. Pizurki L, Zhou Z, Glynos K, Roussos C, Papapetropoulos A. Angiopoietin-1 inhibits endothelial permeability, neutrophil adherence and IL-8 production. *Br J Pharmacol* 2003;139:329–336.
106. Hughes DP, Maron M, Brindle NP, et al. The antiinflammatory endothelial tyrosine kinase Tie2 interacts with a novel nuclear factor- κ B inhibitor ABIN-2. *Circ Res* 2003;92:630–636.
107. Feistritzer C, Mosheimer B, Sturn D, et al. Expression and function of the angiopoietin receptor Tie-2 in human eosinophils. *J Allergy Clin Immunol* 2004;114:1077-84.
108. Daly C, Wong V, Burova E, et al. Angiopoietin-1 modulates endothelial cell function and gene expression via the transcription factor FKHR (FOXO1). *Genes Dev* 2004;18:1060–107.
109. Tsigkos S, Zhou Z, Kotanidou A, et al. Regulation of Ang2 release by PTEN/PI3-kinase/Akt in lung microvascular endothelial cells. *J. Cell. Physiol.* 2006;207:506–511.
110. Tadros A, Hughes DP, Dunmore BJ, Brindle NP. ABIN-2 protects endothelial cells from death and has a role in the antiapoptotic effect of angiopoietin-1. *Blood* 2003;102: 4407–4409.
111. Asahara T, et al. Tie2 receptor ligands, angiopoietin-1 and angiopoietin-2, modulate VEGF-induced postnatal neovascularization. *Circ Res* 1998;83:233–240.
112. Simoes DCM, Vassilakopoulos T, Toumpanakis D, Petrochilou K, Roussos C, Papapetropoulos A. Angiopoietin-1 protects against airway inflammation and hyperreactivity in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2008;177:1314–1321.

113. Tsigkos S, Koutsilieris M, Papapetropoulos A. Angiopoietins in angiogenesis and beyond. *Expert Opin Investig Drugs* 2003;12:933–941.
114. Nishishita T, Lin P. Angiopoietin 1, PDGF-B, and TGF- β gene regulation in endothelial cell and smooth muscle cell interaction. *J Cell Biochem* 2004;91:584–593.
115. Fan F, Stoeltzing O, Liu W, ve ark. Interleukin-1 β regulates Angiopoietin-1 expression in human endothelial cells. *J Cancer Research* 2004;64:3186-3190.
116. Gravallesse EM, Pettit AR, Lee R, ve ark. Angiopoietin-1 is expressed in the synovium of patients with rheumatoid arthritis and is induced by tumour necrosis factor alpha. *Ann Rheum Dis* 2003;62:100-107.
117. Jung YD, Liu W, Reinmuth N, ve ark. Vascular endothelial growth factor is upregulated by interleukin-1 beta in human vascular smooth muscle cells via the P38 mitogenactivated protein kinase pathway. *Angiogenesis* 2001;4:155– 62.
118. Kasama T, Isozaki T, Odai T, Matsunawa M, Wakabayashi K, Takeuchi HT, Matsukura S, Adachi M, Tezuka M, Kobayashi K. Expression of angiopoietin-1 in osteoblasts and its inhibition by tumor necrosis factor-alpha and interferon-gamma. *Transl Res* 2007;149:265–273.
119. Kanazawa H, Nomura S, Asai K. Roles of Angiopoietin-1 and Angiopoietin-2 on Airway Microvascular Permeability in Asthmatic Patients. *Chest* 2007;131(4):1035-41.
120. Thurston G, Suri C, Smith K, ve ark. Leakage resistant blood vessels in mice transgenically overexpressing Angiopoietin-1. *Science* 1999;286 (5449):2511-14.
121. Thurston G, Wang Q, Baffert F, ve ark. Angiopoietin-1 causes vessel enlargement, without angiogenic sprouting, during a critical developmental period. *Development*. 2005 Jul;132(14):3317-26.
122. Zacharek A, Chen J, Cui X, ve ark. Angiopoietin1/Tie2 and VEGF/Flk1 induced by MSC treatment amplifies angiogenesis and vascular stabilization after stroke *J Cereb Blood Flow Metab*. 2007;27(10):1684-91.

123. Mandriota SJ, Pepper MS. Regulation of angiopoietin-2 mRNA levels in bovine microvascular endothelial cells by cytokines and hypoxia. *Circ Res* 1998;83:852–859.
124. Fiedler U, Reis Y, Scharpfenecker M, ve ark. Angiopoietin-2 sensitizes endothelial cells to TNF α and has a crucial role in the induction of inflammation. *Nat Med* 2006;12(2):235-9.
125. Yao D, Taguchi T, Matsumura T, ve ark. Methylglyoxal modification of mSin3A links glycolysis to angiopoietin-2 transcription. *Cell* 2006;124:275–286.
126. Huang YQ, Li JJ, Hu L, Lee M, Karpatkin S. Thrombin induces increased expression and secretion of angiopoietin-2 from human umbilical vein endothelial cells. *Blood* 2002;99:1646–1650.
127. Hegen A, Koidl S, Weindel K ve ark. Expression of angiopoietin-2 in endothelial cells is controlled by positive and negative regulatory promoter elements. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004;24:1803–1809.
128. Oh H, Takagi H, Suzuma K ve ark. Hypoxia and vascular endothelial growth factor selectively up-regulate angiopoietin-2 in bovine microvascular endothelial cells. *J Biol Chem* 1999;274:15732–15739.
129. Ahmad SA, Liu W, Jung YD, ve ark. The effects of angiopoietin-1 and -2 on tumor growth and angiogenesis in human colon cancer *Cancer Res* 2001;61:1255-1259.
130. Makinde T, Immunomodulatory role of VEGF and Ang-1 in airway remodelling. *Current Molecular Medicine* 2006;6:831-841.
131. Yamakawa M, Liu LX, Belanger AJ, ve ark. Expression of angiopoietins in renal epithelial and clear cell carcinoma cells: regulation by hypoxia and participation in angiogenesis. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol* 2004;287:F649- F657.
132. Brown KR, England KM, Goss KL, Snyder JM, Acarregui MJ. VEGF induces airway epithelial cell proliferation in human fetal lung in vitro. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001;281:L1001-L1010.

133. Metheny-Barlow LJ, Tian S, Hayes AJ, Li LY. Direct chemotactic action of angiopoietin-1 on mesenchymal cells in the presence of VEGF. *Microvasc Res* 2004;68:221-30.
134. Liu XH, Kirschenbaum A, Lu M, ve ark. Prostaglandin E2 induces hypoxia-inducible factor-1alpha stabilization and nuclear localization in a human prostate cancer cell line. *J Biochem* 2002;277:50081-6.
135. Visconti RP, Richardson CD, Sato TN. Orchestration of angiogenesis and arteriovenous contribution by angiopoietins and VEGF. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:8219-8224.
136. Wen FQ, Liu X, Manda W, ve ark. Th2 Cytokine-enhanced and TGF-beta-enhanced vascular endothelial growth factor production by cultured human airway smooth muscle cells is attenuated by IFN-gamma and corticosteroids. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111: 1307-18.
137. Wang H, Keiser JA. Vascular endothelial growth factor upregulates the expression of matrix metalloproteinases in vascular smooth muscle cells: role of flt-1. *Circ Res* 1998;83:832-840.
138. Pfaff D, Fiedler U, Augustin HG. Emerging roles of the angiopoietin-Tie and the ephrin-Eph systems as regulators of cell trafficking. *J Leukoc Biol* 2006;80:719-726.
139. Hanahan D. Signaling vascular morphogenesis and maintenance. *Science* 1997;277:48-50.
140. Makinde T, Agrawal DK. Increased expression of Angiopoietins and Tie-2 in the lungs of chronic asthmatic mice. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2011 Mar;44(3):384-93
141. Maniscalco WM, Watkins RH, D'Angio CT, Ryan RM. Hyperoxic injury decreases alveolar epithelial cell expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in neonatal rabbit lung. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1997;16(5):557- 567.
142. Valable S, Montaner J, Bellail A, ve ark. VEGF-induced BBB permeability is associated with an MMP-9 activity increase in cerebral ischemia: both effects decreased by Ang-1. *J Cereb Blood Flow Metab* 2005;25:1491-504.

143. Hoshino M, Takahashi M, Takai Y, Sim J, Aoike N. Inhaled corticosteroids decrease vascularity of the bronchial mucosa in patients with asthma. *Clin Exp Allergy* 2001;31:722–730.
144. Orsida BE, Ward C, Li X, ve ark. Effect of a long-acting beta2-agonist over three months on airway wall vascular remodeling in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:117–21.
145. Asai K, Kanazawa H, Kamoi H, Shiraishi S, Hirata K, Yoshikawa J. Increased levels of vascular endothelial growth factor in induced sputum in asthmatic patients. *Clin Exp Allergy* 2003; 33(5):595– 599.
146. Li X, Wilson JW. Increased vascularity of the bronchial mucosa in mild asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;156:229–233.
147. Nomura S, Kanazawa H, Kazuto H, ve ark. Relationship between vaskular endothelial factor and Angiopoietin-2 in asthmatics before and after inhaled beclamethasone therapy. *J Asthma* 2005;42(2):141-146.
148. Hoshino M, Takahashi M, Aoike N. Expression of vascular endothelial growth factor, basic fibroblast growth factor, and angiogenin immunoreactivity in asthmatic airways and its relationship to angiogenesis. *J Allergy Clin Immunol* 2001;107:295–301.
149. Thurston G, Murphy TJ, Baluk P, Lindsey JR, McDonald DM. Angiogenesis in mice with chronic airway inflammation: strain-dependent differences. *Am J Pathol* 1998;153:1099-112.
150. Abdel-Rahman AM, el-Sahrigy SA, Bakr SI. A comparative study of two angiogenic factors: vascular endothelial growth factor and angiogenin in induced sputum from asthmatic children in acute attack. *Chest* 2006;129:266–71.
151. Park HW, Lee JE, Shin ES, ve ark. Association between genetic variations of vascular endothelial growth factor receptor 2 and atopy in the Korean Population. *J Allergy Clin Immunol* 2006;117:774-779.
152. Medzhitov R, Janeway CA Jr. Innate immunity. *N Engl J Med* 2000, 343:338-344.
153. D'Amore PA. Mechanisms of endothelial growth control. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1992;6:1-8.

154. Thomas PS, Yates DH, Barnes PJ. Tumor necrosis factor alpha increases airway responsiveness and sputum neutrophilia in normal subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;152:76–80.
155. Bradding P, Roberts JA, Britten KM, ve ark. Interleukin-4, -5, and -6 and tumor necrosis factor-alpha in normal and asthmatic airways: evidence for the human mast cell as a source of these cytokines. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1994;10:471-480.
156. Berry M, Brightling C, Pavord I, Wardlaw A. TNF in asthma. *Curr Opin Pharmacol.* 2007;7(3):279-82. Review.
157. van Overveld FJ, Jorens PG, Rampart M, de Backer W, Vermeire PA: Tumour necrosis factor stimulates human skin mast cells to release histamine and tryptase. *Clin Exp Allergy* 1991;21:711-714.
158. Coward WR, Okayama Y, Sagara H, Wilson SJ, Holgate ST, Church MK: NF-kappa B and TNF-alpha: a positive autocrine loop in human lung mast cells? *J Immunol* 2002;169:5287-5293.
159. Ying S, Robinson DS, Varney V, ve ark. TNF alpha mRNA expression in allergic inflammation. *Clin. Exp. Allergy* 1991;21:745–50.
160. Keatings VM, O'Connor BJ, Wright LG, Huston DP, Corrigan CJ, Barnes PJ. Late response to allergen is associated with increased concentrations of tumor necrosis factor alpha and IL-5 in induced sputum. *J Allergy Clin Immunol* 1997;99:693–8.
161. Walker C, Bauer W, Braun RK, ve ark. Activated T cells and cytokines in bronchoalveolar lavages from patients with various lung diseases associated with eosinophilia. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;150:1038–1048.
162. Berry MA, Hargadon B, Shelley M, ve ark. Evidence of a role of tumor necrosis factor alpha in refractory asthma. *N Engl J Med* 2006; 354(7):697–708.
163. Kanazawa H, Asai K, Tochino Y, Kyoh S, Kodama T, Hirata K. Increased levels of angiopoietin-2 in induced sputum from smoking asthmatic patients. *Clin Exp Allergy* 2009;39(9):1330-7.

164. Kanazawa H, Tochino Y, Asai K. Angiopoietin-2 as a contributing factor of exercise-induced bronchoconstriction in asthmatic patients receiving inhaled corticosteroid therapy. *J Allergy Clin Immunol* 2008;121:390–395.
165. Tseliou E, Bakakos P, Kostikas K, ve ark. Increased levels of angiopoietins 1 and 2 in sputum supernatant in severe refractory asthma. *Allergy*. 2012;67(3):396-402.
166. Yancopoulos GD, Davis S, Gale NW, Rudge JS, Wiegand SJ, Holash J. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature* 2000;407:242–248.
167. Bhandari V, Choo-Wing R, Lee CG, ve ark. Hyperoxia causes angiopoietin 2-mediated acute lung injury and necrotic cell death. *Nat Med* 2006;12:1286–1293.
168. Daly C, Pasnikowski E, Burova E, ve ark. Angiopoietin-2 functions as an autocrine protective factor in stressed endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006;17:15491–15496.
169. Pettersson A, Nagy JA, Brown LF, ve ark. Heterogeneity of the angiogenic response induced in different normal adult tissues by vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor. *Lab Invest* 2000;80:99–115.
170. Bandi N, Kompella UB. Budesonide reduces vascular endothelial growth factor secretion and expression in airway (Calu-1) and alveolar (A549) epithelial cells. *Eur J Pharmacol* 2001;425:109–116.
171. Koizumi A, Hashimoto S, Kobayashi T, Imai K, Yachi A, Horie T. Elevation of serum soluble vascular cell adhesion molecule-1 (sVCAM-1) levels in bronchial asthma. *Clin Exp Immunol* 1995;101:468–73.
172. Liu G, Zhu R, Li B. TNF-alpha and IL-8 of the patients with allergic asthma. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2005;25(3):274-5, 309.
173. Basyigit I, Yildiz F, Ozkara SK, Boyaci H, Ilgazli A. Inhaled corticosteroid effects both eosinophilic and non-eosinophilic inflammation in asthmatic patients. *Mediators Inflamm* 2004;13(4):285-91.
174. McCarter SD, Mei SHJ, Lai PFH, Zhang QW, Parker CH, Suen RS, Hood RD, Zhao YD, Deng Y, Han RNN, et al. Cell-based angiopoietin- 1 gene

therapy for acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med* 2007;175:1014–1026.

175. Witzembichler B, Westermann D, Knueppel S, Schultheiss H-P, Tschöpe C. Protective role of angiotensin-1 in endotoxic shock. *Circulation* 2005;111:97–105.