

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MİKROBİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

ALLERJİK RİNİT PATOGENEZİNDE IL-21 VE IL-33'ÜN
ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

İŞİL BAKIŞ
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Neriman AYDIN

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-15035 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2016

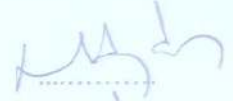
KABUL VE ONAY SAYFASI

T.C. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Işıl BAKIŞ tarafından hazırlanan “**Allerjik Rinit Patogenezinde Il-21 ve Il-33’ün Rolünün Araştırılması**” başlıklı tez, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 09/08/2016

Üye(Tez Danışmanı): Prof. Dr. Neriman AYDIN

ADÜ



Üye : Prof. Dr. Semra KURUTEPE

CBÜ



Üye : Prof. Dr. Şükrü KIRKAN

ADÜ



ONAY:

Bu tez Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsününtarih vesayılı oturumunda alınannolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ahmet CEYLAN
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamda; öncelikle danışmanım Profesör Doktor Neriman AYDIN'a teşekkür ederim.

Tez çalışmamın deney aşamalarının kurulumu ve uygulanmasında her zaman destek olan Doçent Doktor Buket DEMİRCİ, Doçent Doktor Ceren GÜNEL, Yardımcı Doçent Doktor Mustafa YILMAZ, istatistik değerlendirmelerde destek olan Profesör Doktor Oğuz TÜRKOZAN ve Erdoğan MALATYALI' ya teşekkür ederim. Ayrıca Adnan Menderes Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında bana yardımlarını esirgemeyen tüm çalışanlarına, her zaman arkamda duran ailem ve arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

KABUL ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
RESİMLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ.....	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Allerjik Rinit.....	4
2.1.1.Allerjik Rinit Epidemiyolojisi	4
2.1.2. Allerjik Rinit 'in Sınıflandırılması	5
2.1.3. Allerjik Rinitin Klinik Bulguları ve Tanısı	6
2.1.4. Allerjik Rinit'in Patogenezi.....	7
2.1.4.1.Antijen Sunumu.....	7
2.1.4.2. T Hücre Farklılaşması	9
2.1.4.3. IgE Sentezi ve Mast Hücre Degranülasyonu.....	10
2.1.4.4. Allerjik Rinit Tedavisi	12
2.2. İnterlökin-33	13
2.2.1. Reseptör ve sinyal mekanizması	15
2.2.2. İnterlökin-33' ün Bağışık yanıtındaki rolü	16
2.2.3 İnterlökin-33'ün Otoimmün Hastalıklardaki Rolü	20
2.2.4. İnterlökin-33'ün Allerjik Hastalıklardaki Rolü	20
2.3. İnterlökin-21	22
2.3.1. İnterlökin-21'in Reseptör ve Sinyal Mekanizması.....	22
2.3.2.İnterlökin-21'in Bağışık Yanıt ve Hücresel Ağlardaki Rolü.....	24
2.3.3. İnterlökin-21'in Allerjik Hastalıklardaki Rolü	26
2.3.4.İnterlökin-21'in Otommünite ve Diğer Hastalıklardaki Rolü	27

3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	28
3.1. Çalışma Grupları	28
3.1.1. Kontrol Grubu	28
3.1.2. Allerjik Rinit Grubu	28
3.1.3. Kortikosteroid + Allerjik Rinit Grubu	28
3.2. Materyal Toplanması ve Örneklerin Hazırlanması	28
3.2.1. Nazal Sürüntü Örneklerinin Alınışı	29
3.2.2. Kan Örnekleri	29
3.2.3. Doku Homojenizatının Hazırlanması	29
3.3. İnterlökin-21 ve İnterlökin-33 Analizi	31
3.4. Kan Örneklerinde IgE ve Ova sIgE Analizi	31
3.5. PBS (<i>Phosphate Buffered Saline</i>)'in Hazırlanması	32
3.6. IgE, OVA sIgE, IL-21 ve IL-33'ün Analizi İçin ELISA Test Prosedürleri	32
3.7. İstatistiksel Analizler	34
4. BULGULAR	35
5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	50
KAYNAKLAR	51
EKLER	62
ÖZGEÇMİŞ	63

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

AamΦ	: Alternatif olarak aktif makrofajlar
AlHO3	: Alüminyum hidroksit
AR	: Allerjik rinit
ASH	: Antijen sunan hücreler
ASIA	: Astım üzerinde allerjik rinitin etkisi (<i>Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma</i>)
ASMC	: Hava yolu düz kas hücreleri
BAL	: Bronkoalveolar lavaj
Bcl-2	: B hücresi lenfoma geni-2 (<i>B-cell lymphoma gene-2</i>)
BCR	: B hücre reseptörü
C/EBP	: CCAAT/ enhansır bağlayıcı proteinler (<i>CCAAT/enhancer binding proteins</i>)
CD	: Yüzey farklılaşma antijeni (<i>Cluster of Differentiation</i>)
CD40L	: Yüzey farklılaşma antijeni 40 ligandı (<i>Cluster of Differentiation 40 ligand</i>)
cDNA	: Komplemanter DNA
CIS	: SH2 içeren, sitokin ile indüklenebilen protein ailesi (<i>Cytokine-inducible SH2</i>)
CpG	: Sitozin-fosfat-guanin bölgeleri
CSF	: Koloni uyarıcı faktör (<i>Colony-Stimulating Factor</i>)
CTMC	: Bağ doku tipi mast hücresi (<i>Connective tissue- type mast cell</i>)
CXCL8	: İnterlökin-8
dH2O	: distile su
ECF-A	: Eozinofilik kemotaktik faktörü
ECP	: Eozinofil katyonik protein
ELISA / EIA	: Enzim bağlı immün yöntem)
EPO	: Eozinofil peroksidaz
FcεRI	: Yüksek afiniteli IgE reseptörü
FcεRII	: Düşük afiniteli IgE reseptörü
GM-CSF	: Granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör
<i>H. pylori</i>	: <u><i>Helicobacter pylori</i></u>
ICAM-1	: Hücrelerarası adhezyon molekülü-1, CD54
IFN-γ	: İnterferon gama
Ig	: İmmünglobulin

IHR	: <i>The immediate hypersensitivity reaction</i> (ani aşırı duyarlılık reaksiyonu)
IL	: İnterlökin
IL1-Ra	: IL-1 reseptör antagonisti
IL-21R	: İnterlökin-21 reseptörü
IL-33R	: İnterlökin-33 reseptörü
JAK	: Janus aktive kinazlar
KH₂PO₄	: Potasyum dihidrojen fosfat
KS+ AR	: Kortikosteroid+ Allerjik rinitli grup
LPS	: Lipopolisakkarit
m	: Kütle
mA	: Moleküler ağırlık
M1	: Klasik aktive edilmiş makrofaj
M2	: Alternatif aktive edilmiş makrofaj
MAPK	: <i>Mitogen activated protein kinases</i> (Mitojen ile aktive edilmiş protein kinazlar)
MBP	: Majör bazik protein
MCs	: Mast hücreleri
MHC	: Temel doku uygunluk bileşeni (<i>Major Histocompatibility Complex</i>)
MMC	: mukosal mast hücreleri (<i>Mucosal mast cells</i>)
n	: Mol
NaCl	: Sodyum klorür
NaH₂PO₄	: Disodyum fosfat
NF-κB	: Nükleer faktör kappa B
NK	: Doğal öldürücü hücre (Naturel killer hücreleri)
iNKT	: Değişmeyen doğal öldürücü T hücresi (<i>Invariant naturel killer</i>)
OD	: Optik dansitite
OVA sIgE	: Ovalbümine spesifik immünglobulin E
OVA	: Ovalbümin
Pax5	: <i>Paired box</i> proteini 5
PBS	: Fosfat tamponlu tuzlu su (<i>Phosphate Buffered Saline</i>)
PCR	: Polimer zincir reaksiyonu
RA	: <i>Romatooid Artrit</i>
RANTES	: T hücrelerinden salınan aktivasyon düzenleyici
(rm)IL-21	: rekombinant fare (<i>Recombinant murine</i>) IL-21

RT-PCR	: <i>Reverse</i> transkripsiyon-polimeraz zincir reaksiyonu
SF	: Serum fizyolojik
SNPs	: Tek nükleotid polimorfizmleri
SOCS	: sitokin sinyalizasyonunu baskılayıcı protein (<i>Suppressor of cytokine signaling</i>)
SRS-A	: Anafilaksinin yavaş reaksiyon maddesi (<i>Slow reacting substance of anaflexy</i>)
SSI	STAT kaynaklı STAT önleyici protein
sST2	: IL-33'ün çözünebilen reseptörü
ST2	: IL-33 reseptörü
ST2L	: IL-33 reseptörünün membrana bağlı formu
STAT	: Sinyal ileticisi ve transkripsiyon aktivatörü
TCR	: T-hücre reseptörü
TGF	: Transforme edici büyüme faktörü
TH	: Yardımcı T 1 hücreleri
TH2	: Yardımcı T 2 hücreleri
TIR	: Toll-IL-1 reseptörü,
TLR	: Toll benzeri reseptör (Toll-like reseptör)
TNF	: Tümör nekroz faktör
TNF-α	: Tümör nekroz faktör alfa

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Allerjik rinitin hastalık şiddeti ve süresine göre sınıflaması.....	6
Şekil 2. Allerjik rinit patogenezi	7
Şekil 3. Antijen sunumu	8
Şekil 4. T hücre aktivasyonunun başlangıcı: İmmünolojik sinaps	10
Şekil 5. IL-33 sinyal yolları.....	15
Şekil 6. IL-1 ailesi reseptör	16
Şekil 7. IL-33'ün hücreler üzerine etkileri	17
Şekil 8. IL-33'ün ST2 reseptörü ile etkileşiminin sonuçları	18
Şekil 9. Allerjik rinit patogenezinde IL-33'ün rolü.....	21
Şekil 10. γc sitokin ailesinin ortak sitokin reseptörleri	23
Şekil 11. IL-21 'in sinyalizasyon aşamaları	24
Şekil 12. IL-21'in hücreler üzerine etkisi.....	25
Şekil 13. Allerjik rinit fare modelinde serumda OVA sIgE düzeyi	37
Şekil 14. Allerjik rinit sıçan modelinde serumda IgE düzeyleri	37
Şekil 15. Allerjik rinit fare modelinde dokularda IL-33 düzeyi.....	38
Şekil 16. Allerjik rinit fare modelinde serumda IL-33 düzeyi	39
Şekil 17. Allerjik rinit fare modelinde dokularda IL-21 düzeyi.....	39
Şekil 18. Allerjik rinit fare modelinde serumda IL-21 düzeyi	40
Şekil 19. IL-21'in doku ve serumdaki seviyeleri	44
Şekil 20. Total IgE ve IL-21'in serum seviyeleri	45
Şekil 21. OVA sIgE ve IL-21'in serum seviyeleri	46

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Sıçan nazal damla uygulanması	29
Resim 2. Homojenizasyon işleminde kullanılan cihaz (IKA® ULTRA-TURRAX® dispersers).....	30
Resim 3. ELISA analizörü (<i>GRIFOLS</i> marka <i>TRITURUS</i> cihazı)	31



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Sitokinlerin sınıflandırılması.....	13
Tablo 2. Allerjik rinit modelinde sıçan burun dokusunda homojenize edilen örneklerin ağırlıkları.....	30
Tablo 3. Standart reaktiflerin dilüsyon.....	33
Tablo 4. Allerjik rinit sıçan modelinde IL-33, IL-21, Ova sIgE, IgE'nin doku ve serum örneklerinde ve standartlarının optik dansite değerleri.....	35
Tablo 5. Allerjik rinit sıçan modeli çalışma gruplarının konsantrasyon değerleri.....	36



ÖZET

ALLERJİK RİNİT PATOGENEZİNDE IL-21 VE IL-33'ÜN ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI

Bakış I. Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Mikrobiyoloji Programı Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2015.

Allerjik rinit nazal mukozanın enflamatuvar bir hastalığıdır. Allerjik rinit; allerjenlere karşı gelişen immünglobülin E (IgE) aracılığıyla ortaya çıkan, Tip I aşırı duyarlılık reaksiyonuna bağlı gelişmektedir. Allerjik reaksiyonlar Th2 (T *helper*/yardımcı hücresi) hücrelerince kontrol edilir. Allerjik rinit patogeneğinde birçok sitokin rol oynadığı gösterilmektedir. Th2 hücreleri IL-4 (interlökin-4), IL-5, IL-9, IL-13 ve GM-CSF (Granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör) gibi sitokinleri salgılar. Bu sitokinler IgE sentezi, eozinofil ve mast hücreleri gibi hücrelerin aktifleşmesini sağlar. Bu çalışmada allerjik rinit sıçan (rat) modeli oluşturularak patogeneğini etkileyen faktörlerden IgE, Ova sIgE, IL-33 ve IL-21'in araştırılması amaçlanmıştır.

Bu çalışmada 20 Mart 2014 tarihinde onaylanan 64583101/2014/028 sayılı “*Allerjik Rinit Deneysel Hayvan modelinde Thymoquinon'un etkisi*” adlı çalışmadaki sıçanların burun doku parçaları ve çalışmadan artan serum örnekleri kullanıldı. Çalışmaya allerjik rinit oluşturulmuş grupları ile adjuvan ve SF (serum fizyolojik) verilen kontrol grubu alındı. Adnan Menderes Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında serum örneklerinde IgE, OVA sIgE, IL-21 ve IL-33; doku örneklerinde IL-21 ve IL-33 seviyeleri ise ‘*Enzym Immun Assay*’ (EIA) yöntemiyle belirlendi.

Bu çalışmada IL-33'ün dokuda allerjik rinitli ($p=0,048$) ve kortikosteroid+allerjik rinitli ($p=0.035$) gruptaki seviyeleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak yüksek bulundu. Ancak IL-21 ve IL-33'ün serum seviyelerinde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Diğer taraftan IL-21'in doku seviyelerinde gruplar arasında istatistiksel bir fark bulunmamasına rağmen allerjik rinitli grubun doku ve serum örnekleri kendi içinde karşılaştırıldığında dokudaki IL-21 seviyesi serum örneklerine göre istatistiksel olarak daha yüksek bulundu. Serumdaki IgE seviyesi kontrol grubu hem allerjik rinitli grup ($p=0,009$) hem de kortikosteroid+allerjik rinitli gruba ($p=0,011$) göre istatistiksel olarak yüksek bulundu.

Bu çalışmada sonuç olarak IL-33 ve IL-21' in allerjik rinit patogenezinde rolünün olduğu ve allerjik rinitli dokuda daha yüksek seviyelerde sentezlendiği belirlenmiştir. Ayrıca IL-21'in IgE serum seviyesinin aşağı regülasyonu yönünde etkisi olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Allerjik rinit, İnterlökin-21, İnterlökin-33, IL-21, IL-33



ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF THE ROLE OF IL-21 AND IL-33 IN THE PATHOGENESIS OF ALLERGIC RHINITIS

**Bakiş I. Adnan Menderes University Institute of Health Sciences Microbiology
Graduate Program, Master Thesis, Aydın, 2016**

Allergic rhinitis is an inflammatory disease of nasal mucosa. Allergic rhinitis is resulted from Type I hypersensitivity reactions which are caused by allergen-derived immunoglobulin E (IgE). Allergic reactions are controlled by Th2 (T-helper cell). It was shown that many that several cytokines are involved in the pathogenesis of allergic rhinitis. Th2 cells produce cytokines such as; IL-4 (interleukin 4), IL- 5, IL -9, IL - 13, GM -CSF and (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor). These cytokines allow IgE synthesis and the activation of cells such as mast cells and eosinophils. In this study, it was aimed to investigate some factors affecting the pathogenesis of allergic rhinitis: IgE, Ova sIgE, IL-33 and IL-21 by using a created rat model.

In this study, serum samples and nasal tissue were acquired from an early confirmed study **64583101/2014/028** on March 20, 2014 named as "*The Effect of Thymoquinone in Allergic Rhinitis Experimental Animal Model*". The study was included two groups: the study group was consisted of animals with allergic rhinitis and adjuvant/saline (serum physiologic) treated was control group. The study was performed in Adnan Menderes University Medical Microbiology Department, IgE, OVA SIG, IL -21 and IL- 33 levels were investigated in serum samples; IL-21 and IL- 33 levels were investigated in tissue samples by Enzyme Immune Assay (EIA).

It was found that tissue IL-33 level in both of allergic rhinitis ($p=0,048$) and corticosteroid+allergic rhinitis groups ($p=0.035$) were statistically higher than in control group. However there was no statistically significant difference in terms of serum IL-21 and IL-33 levels between groups. Despite finding no statistically significant difference in term of tissue IL-21 level, there was a statistically significant difference when the serum and tissue IL-21 levels were compared in allergic rhinitis group; IL-21 levels in tissue samples were higher than in serum samples. Serum IgE level of control group was found significantly

higher in both allergic rhinitis group ($p=0,009$) and corticosteroid+allergic rhinitis group ($p=0,011$).

This study concludes that IL-33 and IL-21 have a role in the pathogenesis of allergic rhinitis; they were synthesized in higher levels in allergic rhinitis tissue. Additionally, it was thought that IL-21 had a role in down regulation of serum IgE level.

Keywords: Allergic rhinitis, Interleukin 21, Interleukin 33, IL-21, IL-33



1. GİRİŞ

Allerjik rinit IgE bağımlı, tip 1 aşırı duyarlılık reaksiyonu olarak ortaya çıkan nazal mukoza hastalığıdır. Allerjik rinit birçok gelişmiş ülke de dâhil olmak üzere dünya nüfusun yaklaşık %10 ila 20'sini etkileyen yüksek prevalans gösteren bir hastalıktır (Korkut, 2001). Allerjik rinit ile ilgili belirtiler genellikle yaşamın ikinci, üçüncü yıllarında yani erken çocukluk döneminde başlamaktadır. Bu belirtiler arasında koku alma bozukluğu; geniz, boğaz ve burunda kaşıntı, burun tıkanıklığı, hapsirme isteği; seröz akıntı vb. yer almaktadır. Baş ağrısı ve konjonktivit klinik tabloya eklenebilmektedir. Diğer taraftan bu hastalık bireyin sosyal, psikolojik ve fiziksel hayatını da etkilemektedir.

Allerjik rinitteki temel patogeneze, mukozaya gelen allerjenin immün sistem tarafından tanınmasıyla başlar. İmmün sistemin cevap oluşturabilmesi için çeşitli sitokinler, kemokinler, mediyatörler salınır. Böylece birçok inflamatuvar olayın olduğu, iki fazlı olarak ayrılan reaksiyonlardan oluşmaktadır. Bunlardan birinci faz 'duyarlaşma fazı' ve ikinci faz 'klinik fazıdır' (Bozoğlan, 2011). Klinik faz kendi içinde 2 aşamalı olarak gerçekleşmektedir. Bunlar mast hücrelerinin etkin olduğu erken faz ve hücrel infiltrasyon ile mediyatörlerin salgılandığı geç faz aşamalarıdır (Karaşen, 2001).

Allerjik riniti oluşmasına neden olan fazlardan erken faz tepkilerinde, allerjenle karşılaşıldıktan sonra allerjen mast hücresi üzerinde ki IgE ile birleşerek hücrenin aktive olmasını sağlar ve IgE bağımlı erken faz tepkileri oluşur. Bu aktivasyon daha sonra TH2 sitokin bağımlı geç faz tepkilerine de neden olmaktadır (Skoner, 2001; Borish, 2003; Galli ve ark, 2008). Erken faz tepkimelerinde klinik belirti ve bulgu olarak hapsirme ve burun akıntısı, 5 ila 30 dakika içinde ortaya çıkmaktadır. Mast hücresi aktivasyonundan sonra salınan histamin gibi mediyatörler damar geçirgenliği ve ödem oluşumunda hızlı bir artışa yol açmaktadır (Galli ve ark, 2005).

Allerjik rinitte oluşan geç faz immünoloji yanıtları, bir allerjenle karşılaştıktan 6 ila 24 saat sonra gerçekleşir (Haenuki ve ark, 2012). Geç faz yanıtları ile ilişkili en önemli patolojik değişiklik burun mukozası içine eozinofiller gibi inflamatuvar hücrelerin göçü olduğu bildirilmektedir (Skoner, 2001; Borish, 2003; Galli ve ark, 2008).

Allerjik rinitli hastalarda tipik olarak serum IgE düzeylerinde artış olmaktadır (Jen ve ark, 2014). İmmünglobulin E sentezinin başlatılması için, solunumla alınmış olan allerjenin, dendritik hücrelerle karşılaşması gerekir (Uysal-Soyer, 2008). Daha sonra bu dendritik hücreler, işlemiş oldukları antijeni T ve B hücrelerine sunmak üzere lenf düğümlerine göç

ederler (Noah ve Becker, 2000; Şahiner, 2012). B hücrelerinin IgE izotipini oluşturmak üzere değişimi için iki sinyale gereksinim duyar. İlk sinyal IL-4 ve IL-13'ün B hücreleri üzerindeki reseptörlere bağlanmasıyla başlar (Şahiner, 2012). IL-4 reseptörleri ile başlatılan sinyal iletiminin ilk basamağını Tirozin kinaz ailelerinden biri olan Janus aktive kinazların (JAK) aktivasyonu oluşturur (Uysal-Soyer, 2008). Tirozin rezidüllerinden fosforile olan JAK, sinyal ileticisi ve transkripsiyon aktivatörü 6 (STAT6) molekülü ile bağlanır ve STAT6 molekülünün fosforilasyonuna neden olur. IL-4 veya IL-13'ün tetiklediği STAT6 aktivasyonu çeşitli genlerin promotor bölgelerindeki dizilere bağlanarak, Cε lokusunda RNA transkripsiyonunu tetikler (Uysal-Soyer, 2008). İkinci sinyal, B hücrelerin yüzeyinde bulunan CD40, T hücre yüzeyindeki CD40 ligand (CD154) ile bağlanınca gerçekleşir (Kawabe ve ark, 1994). İε promotorunda STAT6 bağlanma bölgesinin dışında nükleer faktör kappa B (NF-κB), Pax5 (paired box protein 5) ve C/EBP (CCAAT/enhancer binding proteins) için de bağlanma bölgeleri bulunmaktadır (Uysal-Soyer, 2008). CD40 bağlanması, NF-κB aktivasyonuna neden olur ve ε-germline transkripsiyonunu artırır.

IgE antikorları B hücreleri tarafından sentezlenip salgılandıktan sonra, dokudaki mast hücreleri veya periferik kan bazofilleri üzerinde yer alan yüksek afiniteli IgE reseptörlerine (FcεRI) ve lenfosit, trombosit, eozinofil, makrofaj ve diğer pek çok hücrenin yüzeyinde yer alan düşük afiniteli IgE reseptörlerine (FcεRII) bağlanmadan önce, kısa bir süre kanda dolaşır (Uysal-Soyer, 2008). Allerjen reseptöre bağlı IgE molekülü ile bağlandığı zaman oluşan FcεRI reseptörlerinin moleküler köprüleşmesi, hücrelerin aktivasyonuna sebep olur ve önceden var olan veya yeni sentezlenen mediyatörlerin salınımına neden olur (Oettgen ve Geha, 2001).

Allerjik rinit patogeneğinde sitokinlerin rolünü araştıran birçok çalışma bulunmaktadır. Bu sitokinlerden biri de IL-33 olup naturel killer (NK) ve T hücrelerinin bir alt grubu olan invaryant NK (iNKT) hücreleri tarafından üretilen IL-4 gibi Th2 tipi sitokinlerin üretimini artırmaktadır (Smithgall ve ark, 2008). IL-33'ün serumda artmasına; yaralanma ya da mekanik travma, viral infeksiyonlar, duman, havadaki allerjenlerin veya endojen tetikleyiciler gibi eksojen tetikleyiciler yol açmaktadır. Bu artışa patolojik olaya bağlı olarak epitel hücrelerinin nekrozu sırasında IL-33'ün serbest kalmasına neden olmaktadır. IL-33 salınımı diğer sitokinler ile birlikte allerjik reaksiyon kaskadını başlatabilmektedir. Ayrıca, IL-33 özellikle IL-1, IL-6, IL-13 ve TNF gibi pro-inflamatuar sitokin ve kemokinlerin, mast hücreleri üzerine indükleyici etkisini güçlendirmektedir. Mast hücrelerinin IgE tarafından degranülasyonunu, mast hücre olgunlaşmasını ve yaşam süresini artırdığı bilinmektedir. IL-33'ün hedef hücreleri arasında bazofiller de yer almaktadır. IL-33'ün IL-4, IL-6 ve IL-13 gibi

çeşitli sitokinler ve kemokinleri arttırması ile bazofillerin uyarılması, adezyonu, integrin ekspresyonunu, kemotaksisini, degranülasyonunu ve yaşam sürelerini arttırdığı gösterilmiştir (Smithgall ve ark, 2008). Ayrıca IL-33'ün, *in vivo* olarak eozinofili oluşturmada güçlü bir aktivatör olduğu gösterilmiştir. Eozinofilleri aktive ederek, IL-8 ve süperoksit üretimini, eozinofil adezyon molekülleri ekspresyonunu ve yaşam sürelerini arttırdığı belirlenmiştir (Cherry ve ark,2008). Mast hücrelerinin, bazofillerin ve eozinofillerin allerjik yanıtlar için önemli rolleri dikkate alındığında, bu bulgular IL-33'ün alerji, astım ve septik şokta önemli bir rolünün olduğunu düşündürmektedir.

Allerjik rinitin patogenezinde rolü araştırılan sitokinlerden biri de IL-21'dir. İnterlökin-21 IgE üretimini düzenleme fonksiyonu nedeniyle allerjik hastalıklarda önemli bir yeri olduğu düşünülmektedir (Tamagawa-Mineoka ve ark, 2011). İnterlökin-21, allerjik hastalarda CD40L ve IL-4 kombinasyonu ile indüklenmiş B hücrelerinin IgE salgılanmasını engellediği bildirilmiştir (Jen ve ark,2014). Bu B hücrelerinin IL-4 ile uyarıldıktan sonra, STAT6 bağımlı IgE üretimini inhibisyonu sonucu oluşmaktadır (Suto ve ark,2002). IL-21, SOCS/CIS/SSI gibi sitokin salınımını inhibe eden regülatör proteinlerin oluşmasını indükleyerek, IL-4 aracılığıyla aktive olacak STAT6 sinyal yolağını inhibisyonuna yol açarak IgE oluşumunu azalttığı düşünülmektedir (Suto ve ark, 2002). IL-21'in allerjik rinit patogenezinde etki mekanizmalarından biride B hücreleri ve fibroblastlar tarafından eotaxin üretimiyle olmaktadır. Bu hücrelerden eotaxin üretimi eozinofil göçüne sebep olarak IgE üretimini önler (Gong ve ark,2003). Allerjik rinitli hastalarda klinik olarak antijenlere karşı spesifik IgE' lerde artış olmaktadır. Bu artış tanı konulmasında belirleyici faktör olmaktadır. Ancak serumda antijene spesifik IgE ve alerji belirtileri her zaman birlikte bulunmayabilir (Yoshimasa ve ark, 2015).

Bu çalışmada allerjik rinit sıçan modelinde IL-21 ve IL-33'ün IgE ve spesifik IgE ilişkisinin ve allerjik rinit patogenezinde rolü araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Allerjik Rinit

Alerji kelimesi Yunancadan köken alan farklı tepki vermek anlamına gelen bir kelimedir. Rinit, ise burun içini kaplayan mukozanın enflamasyonu olarak tanımlanır (Meltzer,1994). Allerjik rinitin ilk tanımı 1818 yılında Bostrock tarafından ilk önce mevsimsel burun akıntısı sonra saman nezlesi olarak tanımlanmıştır (İnan,2003). Günümüzde ise allerjik rinit burun mukozasının, allerjene maruz kalma sonrasında, IgE 'ye bağlı hücrel enflamasyonu olarak tanımlanabilmektedir (Gonca,2012). Burunda sulu akıntı, burun tıkanıklığı, burun kaşıntısı ve hapşıрма ile karakterizedir. Bunun yanında baş ağrısı, konjonktivit, koku alma bozukluğu gibi semptomlar da eşlik edebilir.

Allerjik rinit burun iç yüzünü örten zarın (mukoza) enflamasyonu olarak da tanımlanabilir. Bu inflamasyon, Th-2 hücrelerinin aktivasyonu, eozinofillerin çoğalması ve allerjene spesifik IgE antikorunun üretimiyle karakterizedir. İmmünglobulin E allerjik hastalıkların patogeneğinde önemli bir moleküldür. Mast hücreleri ve bazofiller üzerindeki IgE 'ye spesifik yüksek afiniteli FcεR reseptörlere çapraz bağlandığında allerjik hastalıklarda gözlenen belirtilerin sorumlu mediyatörlerin salınmasına neden olmaktadır.(Chuang ve ark,2009; Kuhl ve Hanania 2012) .

2.1.1. Allerjik Rinit Epidemiyolojisi

Allerjik rinit, günümüzde birçok insanın günlük yaşam kalitesini etkileyen ve ölümcül olmayan bir hastalıktır. Bu hastalık çocukluk yaşlarda da görülmektedir ve geniş bir prevalansa sahiptir. Sıklığı ülke, bölge, şehir, kırsal kesime göre değişmekle birlikte genelde % 25-35 ve hatta bazı bölgelerde % 44 olarak bildirilmiştir (Kurt, 2012). Türkiye'de 4125 gönüllü ile 7 coğrafya bölgesinde allerjik rinitle ilgili bir tarama testi yapılmıştır (Cingi ve ark, 2010) . Bu çalışma sonunda doktor tanıli allerjik rinitli hasta oranı %20,1 gözlenmiştir. Ancak allerjik rinit semptomlarını ciddiye almayan hastalar da göz önüne alınırsa bu sayıların gerçeği yansıtmadığı düşünülmektedir (Kadıköylü,2007). Bu yüzden özellikle son 20 yıldır

insanların yaşam kalitesini etkileyen önemli ciddi bir hastalık olarak kabul edilmeye başlanmıştır (Kurt,2012).

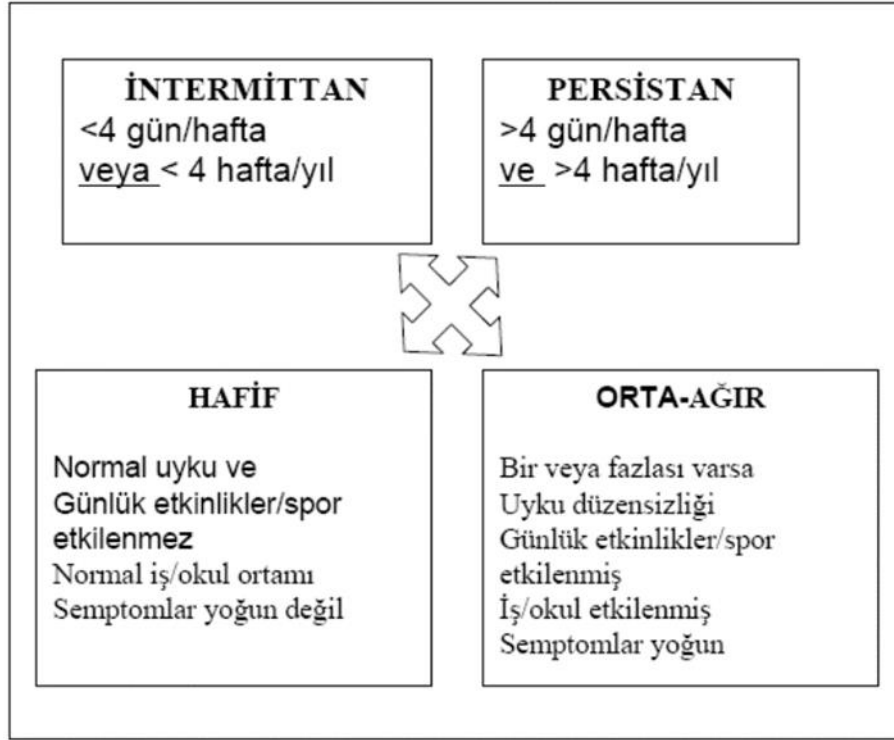
Allerjik rinit insidansını etkileyen birçok faktör bulunmaktadır. Bu faktörlerden bazıları allerjik rinit insidansını artırdığı bildirilmiştir (Çanakçıoğlu ve Tahami, 1994);

1. Ailede alerji veya atopi öyküsü olması
2. Sosyoekonomik düzeyin yüksek olması
3. Siyah ırk
4. Hava kirliliği
5. Ailenin ilk çocuğu olma
6. Ev içinde hayvan beslenmesi
7. Doğumu izleyen ilk 1 yılda evde sigara içilmesi
8. Bebeğin bir yaşından önce yapay mamalarla beslenmesi

Atopi; allerjik hastalıkların oluşmasını kolaylaştıran sebepler arasında ilk olarak yer almaktadır. Atopi, insanının doğuştan çevresinde olan allerjenlere karşı tepki göstermesidir ve genellikle kalıtsaldır. Allerjenler ise hastalığın ortaya çıkmasındaki tetikleyici faktörlerdir (Kadıköylü,2007; Tokmak 2007).

2.1.2. Allerjik Rinit 'in Sınıflandırılması

Allerjik rinit semptomlarının ortaya çıkmasına göre mevsimsel allerjik rinit ve perennial (yıl boyu süren) allerjik rinit olarak sınıflandırılmaktadır. Mevsimsel allerjik rinitin başlıca kaynağı polenlerdir (Ağaç, ot, çiçek). Mevsimsel allerjik rinit genel olarak hapşırma ve burun kaşıntısıyla görülür. Perennial allerjik rinit ise belirli bir mevsime bağlı olmaz ve yıl boyu sürer. Allerjenlerden en önemlileri ev tozu akarları, mantar sporları ve hayvan tüyleridir. Ancak yıl içi semptomlara göre sınıflamadaki yetersizliği nedeniyle *Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma* (ARIA), semptomlar ve yaşam kalitesine dayalı yeni bir sınıflama oluşturmuştur. Bu sınıflamada olgular süresine göre intermittan ve persistant, şiddetine göre ise hafif ve ortaya göre gruplandırılmıştır (Şekil-1) (İnan, 2003). Bu sınıflamada intermittan hastalarda semptomların haftada 4 günden az veya yılda 4 haftadan kısa sürdüğü; persistant hastalarda ise semptomların hem haftada 4 günden daha fazla hem de yılda 4 haftadan uzun sürdüğü kabul edilmektedir.



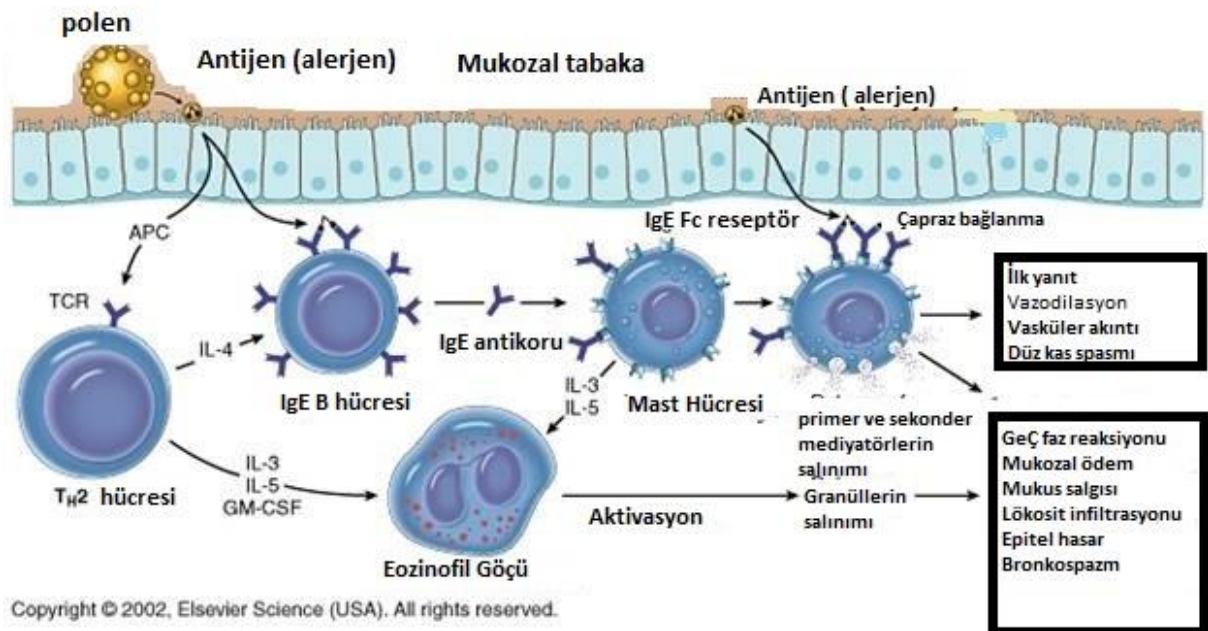
Şekil 1. Allerjik rinitin hastalık şiddeti ve süresine göre sınıflaması. (Gonca,2012'den alınmıştır)

2.1.3. Allerjik Rinitin Klinik Bulguları ve Tanısı

Allerjik rinitteki en karakteristik semptom, hapşırmadır. Buna ek olarak burun akıntısı, burun kaşınması, burun tıkanıklığı eklenebilir. Gözlerde ise kaşıntı sulanma ve kızarıklık olabilir (Akkan- Tetik, 2009).

Allerjik rinitte tanı, bu hastalığa ait özel bazı sorularla alınan ayrıntılı bir anamnez ve hastalık hikâyesi ile başlar. Burun, sinüsler ve akciğerlerin ayrıntılı muayenesi ile birlikte genel bir fizik muayene ile beraber laboratuvar testleri yardımı ile konmaktadır (Apaydın,2008). Laboratuvar testlerinde ise en çok kullanılan periferik kan sayma, total serum IgE düzeyi, allerjene spesifik IgE ve nazal smear testleridir. *In vivo* testlerinde ise en çok strach, prick ve intradermal testleri kullanılmaktadır.

2.1.4. Allerjik Rinit'in Patogenezi



Şekil 2. Allerjik rinit patogenezi

(http://vet.uga.edu/ivcvm/courses/VPAT5200/03_inflammation/07_imi/imi02.html' dan alınmıştır)

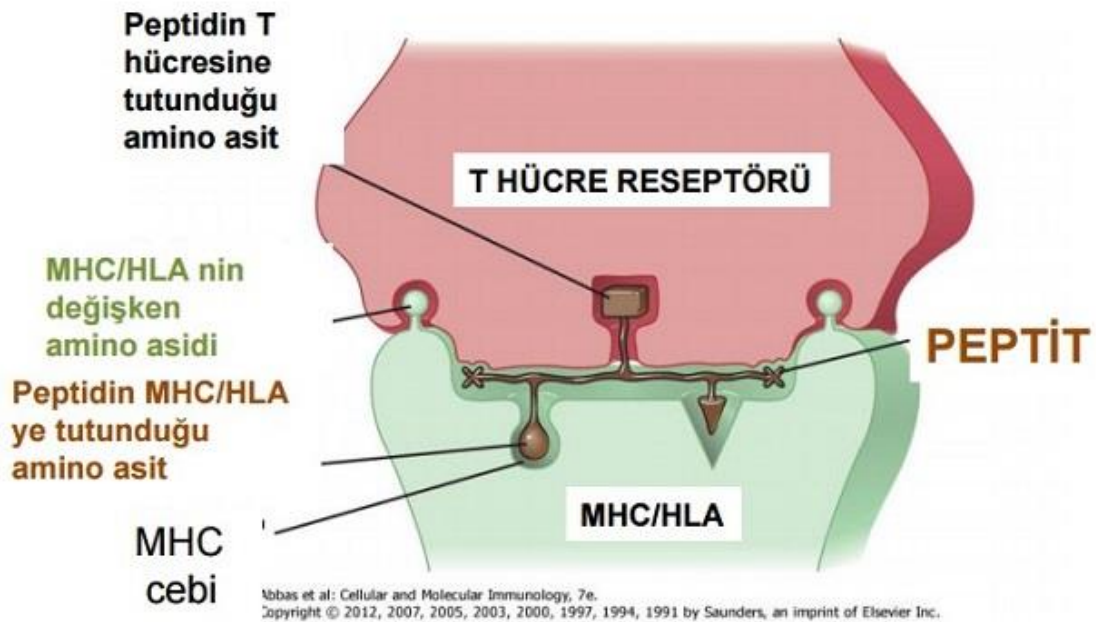
Allerjik rinit mukoza enflamasyonu ile karakterize, atopik kişilerde allerjenlere karşı oluşan immünolojik yanıtlarla ortaya çıkan bir hastalıktır. Bu immünolojik mekanizmalar sırasıyla antijenin sunumu, T hücre farklılaşması, IgE sentezi ve mast hücre degranülasyonu şeklindedir (Barnes,1998).

2.1.4.1. Antijen Sunumu

Allerjik rinitin patogenezinde ilk basamak organizmanın allerjene karşı duyarlaşmasıdır. Solunum mukozası, pikogramdan, nanogram boyutuna kadar polen, ev akarlarının dışkısı, hayvan epitel artığı ve birçok allerjene maruz kalmaktadır. Naif T lenfositlerinin antijenlere karşı immün yanıt oluşturabilmesi için antijenlerin antijen sunan hücrelerce (ASH) sunulması gerekmektedir. Antijen sunan hücreler T lenfositleri için dendritik hücreler, mononükleer fagositler, B lenfositler ve vasküler endotellerdir (Karabıcak,2011). Mukozada depo edilen

antijenler, antijen sunan hücreler (ASH) tarafından fagositte edilerek proteolizis ile 7-14 aminoasit uzunluğunda peptitlere bölünürler (Bozoğlu,2011). Hücrelerin, antijen sunan hücre olarak tanımlanabilmesi için bu parçalama işlemini yapacak proteolitik enzimlere sahip olması aynı zamanda *class* (sınıf) II MHC (*Major Histocompatibility Complex*) molekülü taşımaları gerekmektedir (Karabıçak,2011) .

Antijen sunan hücrelerden biri olan dendritik hücreler aynı zamanda normalde lenf düğümlerinde T hücrece zengin alanlarda üretilen ve kemoatraktan özellikli sitokinler olan kemokinlere özgü yüzey reseptörleri de eksprese eder. Bu kemokinler dendritik hücreleri lenfatik damar aracılığıyla, uyarılmış epitelin direne olduğu lenf düğümlerine doğru göçe yönlendirir. Bu göç sırasında dendritik hücreler antijen yakalayan hücrelerden T lenfositlerini uyarabilen antijen sunucu hücrelere dönüşür. Bu olgunlaşma T hücrelerine antijen sunan MHC moleküllerinin ve tam bir T hücre yanıtı için gerekli olan eş-uyarıcı (costimulator) moleküllerin sentezinin ve kalıcı ekspresyonunun artışı ile gözlenir. Antijen sunan hücre içinde hazırlanmış olan peptitler, MHC moleküllerine bağlanır ve hücre yüzeyine taşınır (Akhan-Tetik,2009).



Şekil 3. Antijen sunumu (Saruhan-Direskeneli (2014) ‘ten alınmıştır)

(http://www3.istanbul.edu.tr/itf/fizyoloji/Ogrenci_Isleri/2014-2015/EDINSEL_2014.pdf)

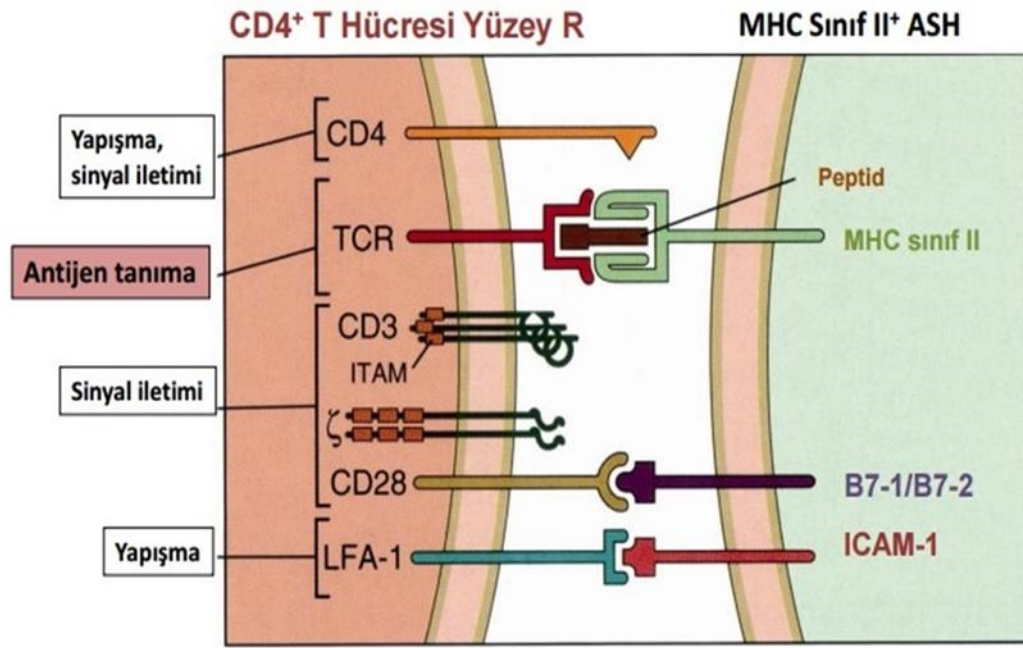
2.1.4.2. T Hücre Farklılaşması

Allerjenler ASH tarafından yakalanıp naif T hücrelerine sunulmasının ardından T hücre aktivasyonu için birtakım sinyaller gereklidir. Bunlardan birincisi $CD4^+$ T-hücre reseptörü (TCR) aracılığı ile olmaktadır. Antijen sunan hücrelerin üzerindeki MHC-II' ye bağlanmış olan antijen $CD4^+TCR'$ ye bağlanır.

T hücrelerinin farklılaşması $CD4$ yardımcı T hücreleri hemen tüm allerjik hastalıklarda olduğu gibi allerjik rinitte de orkestra şefi rolü üstlenmiş ve düzenleyici hücre rolü bulunmaktadır. $CD4'$ ün MHC sınıf II' ye özgüllüğü dolayısıyla, sınıf II ile ilişkili peptitler yardımcı T hücresi olarak görev yapan $CD4^+T$ hücrelerince tanınır.

Antijen sunumundan sonra $CD4$ hücresi IL-2, IL-18 varlığında interferon gama ($IFN-\gamma$) ve IL-2 salgılayan Th1; IL-4 varlığında ise IL-4, IL-5, IL-6, IL-9 IL-10 ve IL-13 salan Th2 hücresine farklılaşma gösterir. Th2 hücreler tarafından sentezlenen bu sitokinler; atopi için uygun ortamın sağlanması ve devamı, diğer immün yanıtların süpresyonu, B hücrelerinden IgE sentezinin stimülasyonu olmak üzere üç ana fonksiyon üstlenirler (Barnes,1998).

T hücre yüzeyindeki CD3 (*Cluster of Differentiation*) ve T hücre reseptöründen oluşan kompleksin MHC II ile bağlanmasından sonra T hücre yüzeyinde süratle CD40 ligandı ortaya çıkar. Bu ligand, B hücre yüzeyinde daha önceden mevcut bulunan CD40 ile birleşir. Böylece B hücresi epsilon ağır zincir sentezi (IgE izotip değişimi) için gerekli olan iki sinyali (IL-4 ve CD40-CD40 ligandı) almış olur ve IgE sentezi başlar. Bu birleşme CD 28 (T hücre) ve B 7 (B hücre) arasındaki bağlantı ile daha güçlü bir hal alır. CD 28 ile B 7 arasındaki bu bağlantı Th2 hücresinden IL 4 salınımını da artırır. T hücre aktivasyonunun kalıcılığı ASH 'de eksprese olan T hücrelerindeki ICAM-1 adesyon molekülleriyle olur.



Şekil 4. T hücre aktivasyonunun başlangıcı: İmmünolojik sinaps (Saruhan-Direskeneli (2014) ‘ten alınmıştır) (http://www3.istanbul.edu.tr/itf/fizyoloji/Ogrenci_Isleri/2014-2015/EDINSEL_2014.pdf)

2.1.4.3. IgE Sentezi ve Mast Hücre Degranülasyonu

B hücresinden IgE salınımının başlaması için iki uyarı gereklidir. Bunlar IL-4 ve CD 40 ligandının oluşumudur. IgE sentezi, T hücre yüzeyindeki CD3 ve T hücre reseptöründen oluşan kompleksin MHC II ile bağlanmasından sonra T hücre yüzeyinde oluşan CD 40 ligandı B hücre yüzeyinde var olan CD 40 ile birleşir. Bu ilişki CD 28 (T hücre) ile B7 (B hücre) arasındaki bağlantı ile daha da güçlenir. CD 28 ve B7 bağlantısı aynı zamanda Th-2 hücresinden IL-4 salınımını artırır. IL-4 kendi reseptörüne bağlanır. Böylece B hücresi epsilon ağır zincir sentezi için gerekli olan iki sinyali (IL-4 ve CD40-CD40 ligandı) almış olur (Yaz,2008). Bu uyarılardan sonra B hücresinde Ig sentezi başlar. B hücreleri tarafından sentezlenen IgE FcεRI olarak adlandırılan ve mast hücre ve bazofillerin üzerinde bulunan yüksek afiniteli Fcε reseptörüne bağlanır. Allerjenlere tekrar karşılaşıldığında, mast ve bazofil hücre yüzeyine bağlanmış IgE molekülleri arasında çapraz bağlantıya yol açar ve FcεRI zincirinden biyokimyasal sinyal iletimini başlatılır. Bu sinyaller, mast hücrelerinde 3 tip cevaba neden olur;

1. Granül içeriklerinin hızlı salınımı (degranülasyon)
2. Lipit mediyatörlerin yapımı ve salgılanması
3. Sitokinlerin yapımı ve salgılanması

Mast hücrelerinin degranülasyonu ile histamin, proteazlar, lökotrienler (cysteinil LT, LT C4, LT D4, LT E4), araşidonik asit prostaglandinler (PGD2, PGI2, PGE2, PGF2 α), eozinofilik kemotaktik faktörü (ECF-A) ortaya çıkar (Akkuş,2007). Bu mediyatörlerin farklı etkileri vardır. Histamin, en önemli âmin olup, küçük çaplı kan damarlarında genişlemeye, damar geçirgenliğinde artışa, düz kaslarda geçici kasılmalara neden olur. Proteazlar, dokularda yerel hasara sebebiyet verir. Araşidonik asit metabolitlerinden prostaglandinler, vasküler dilatasyona, lökotrienler ise uzun süreli düz kas kasılmalarına neden olurlar. ECF-A, mast hücreleri ve bazofillerde önceden yapılmış olarak bulunur ve tüm mediyatörleri, birlikte eozinofilleri reaksiyon alanına çeker (Ceylan,2005). Bu nedenle, mast hücrelerden salınan mediyatörler, Tip I aşırı duyarlılık reaksiyonunda damar, düz kas reaksiyonlarından ve enflamasyondan sorumludur. Buna bağlı olarak burun tıkanıklığı rinore, hapşırma ve burun kaşıntısı gibi semptomlar görülür.

Mast hücreleri tarafından üretilen sitokinler, geç dönem reaksiyona neden olur ve lökositlerin toplanmasını uyarırlar. Bu reaksiyonda rol alan başlıca hücreler lökositler, eozinofiller, nötrofiller ve Th2 hücreleridir. Nazal mukozadaki uyarılmış hücrelerden mediyatör salgılanmasına ek olarak sitokinler de salgılanır. Bu salgılama vasküler endotelde adezyon moleküllerini arttırır. Sitokin salgılanması nazal mukozada eozinofillerin hayatta kalım süresini de uzatmakla birlikte bu süreç IL-3, IL-4, IL-5, IL-8; granülosit makrofoj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF) ve TNF- α (tümör nekroz faktörü) üretilmesini içerir (Karabıçak, 2011). Eozinofiller proinflamatuvar mediyatörlerin sisteinil lökotrienler, katyonik proteinler, eozinofil peroksidaz, major basic protein, IL-1, IL-3, IL-5 ve GM- CSF salınımını gerçekleştirirler. IL-4 ve IL-9 mast hücre maturasyonunda rol alırken, GM-CSF, IL-3, IL-5 eozinofillerin diferansiyasyon ve maturasyonunda, IL-6 eozinofil ve mast hücrelerin aktivasyonunda önemlidir (Bayram, 2007). Geç faz mediyatörlerin arasında lökotrienler (SRS-A), histamin, IL-6 ve IL-1, GM-CSF ve IL-8 sayılabilmektedir. Mast hücresi kaynaklı TNF- α ve IL-4 nötrofilden ve eozinofilden zengin enflamasyonu artırır. Mast hücreleri ve dokulardaki epitel hücreleri tarafından üretilen kemokinler lökositlerin toplanmasına etki ederler. Eozinofiller, sitokinlerin ve mediyatörlerin yanında majör bazik protein (MBP) ve eozinofil katyonik protein (ECP),eozinofil peroksidaz (EPO), eozinofil kökenli nörotoksin gibi polipeptitleri de açığa çıkarırlar. Lökotrienler eozinofiller için kemotraktan özelliğine sahiptir. Lökotrienlerin *in vitro* koşullarda insan eozinofilleri için oldukça güçlü ve spesifik

kemotraktan özelliği bulunduğu, ve eozinofil sayısını artırdığı bilinmektedir. Ayrıca lökotrenerlerin allerjik hastalıklarda gözlenen eozinofilide rol oynayan IL-5 sentezini uyardığı ve B lenfositlerin IgE sentezlemesini sağlayan IL-4'ün etkisini kuvvetlendirdiği gösterilmiştir (Özer ve Yosunkaya,2005) Eozinofiller ve nötrofiller proteazlarını salarak doku hasarına neden olurken, Th2 hücreleri daha fazla sitokin üreterek reaksiyonu artırır (Avinçsal, 2010). Mukus hipersekresyonu, ödem, nazal konjesyon ve hava yolu hiperaktivitesi gibi enflamatuvar reaksiyonlar ortaya çıkar. Eozinofillerin baskın olduğu ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu ile karakterize olan geç faz allerjik yanıtında klinik olarak nazal mukozada kalınlaşma, hava akımına artmış rezistans ve nazal obstrüksiyon meydana gelmektedir.

2.1.4.4. Allerjik Rinit Tedavisi

Allerjik rinit tedavisinde yaklaşım hastaya göre bireyselleştirilmelidir. Tedavi 3 başlık altında incelenebilir (Bozoğlu,2011).

1. Allerjenden korunma, hava yoluyla etkili olan bir allerjenin yaratacağı reaksiyonu önlemenin en etkili yoludur. Böylece allerjenin solunum yolu mukozasıyla temasını önlenmektedir.

2. Farmakoterapi, medikal tedavisinde oral antihistaminikler, topikal nazal kortikosteroid spreylere, sistemik kortikosteroidler, oral veya topikal nazal dekonjestanlar, mast hücresi stabilizörleri, topikal nazal antihistaminikler gibi ilaç grupları kullanılmaktadır.

3. Allerjene spesifik immunoterapi; allerjik semptomlara yol açan antijenlerin düşük dozdan başlanarak giderek artan dozlarda verilmesi ile allerjenlere karşı oluşan immün yanıtların değiştirilmesi işlemidir.

Allerjik rinit patogeneğinde birçok sitokin de rol oynadığı gösterilmektedir. Sitokin (Yunanca cyto-, hücre ve -kinos, hareket); immün yanıt sırasındaki bazı hücreler tarafından salınan hormon veya hücreler arasındaki sinyalleme ilgili olan protein veya glikoprotein yapıda olup hücrelerin aktivitelerini yönlendiren molekül grubuna denir. Sitokinler ayrıca hematopoez, embriyogenez gibi pek çok biyolojik mekanizmada otokrin, parakrin ve endokrin etkisi vardır. Bazı dokularda birbirleriyle aynı etkiye sahip olabilen sitokinler, başka dokularda zıt etki de gösterebilmekte ve birbirlerini inhibe edebilmektedirler.

Tablo 1: Sitokinlerin sınıflandırılması

SİTOKİNLERİN SINIFLANDIRILMASI	GÖREV	ÇEŞİT
İnterferonlar (IFN)	Viral enfeksiyonlarını sınırlamada önemli rol oynar ve enfekte olmamış hücrede antiviral direnci uyarırlar.	IFN- α , IFN- β , IFN γ . IFN- α ve IFN- β viral enfekte hücrelerde üretilirler, IFN γ ise aktive Th1 hücrelerinden salınır.
Kemokinler	Lökositlerin vücut içerisindeki hareketlerini yönlendirir. Kemotaktik sitokinlerdir.	Rantes (T hücrelerinden salınan aktivasyon düzenleyici)
Tümör Nekroz Faktörler (TNF)	İnflamasyona aracı olma ve sitotoksik reaksiyonlara katılırlar.	TNF α , TNF β ve transforme edici büyüme faktörü- β (TGF β)
Koloni uyarıcı faktörler (CSF)	Kemik iliği kök hücrelerinin ve kan lökosit öncüllerinin bölünme ve farklılaşmasını yöneten sitokinlerdir. Bazıları kemik iliği dışındaki hücrelerinde farklılaşmasını uyarabilirler.	Granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör (GM-CSF)
İnterlökin (IL)	Temelde T hücrelerce üretilen bazıları mononükleer fagositler ve doku hücrelerinde üretilen lökositlerden köken alır. Çeşitli fonksiyonları olmakla birlikte çoğu diğer hücrelerin bölünme ve farklılaşmasına yol açarlar.	IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12, IL-13, IL-14, IL-15, IL-16, IL-17 (A-F), IL-18, IL-19, IL-20, IL-21, IL-22, IL-23, IL-24, IL-25, IL-26, IL-27, IL-28, IL-29, IL-30, IL-31, IL-32, IL-33, IL-34, IL-35, IL-36, IL-37.

Sitokinler yapı ve işlevlerine göre; interferonlar (IFN) , interlökinler (IL) , koloni uyarıcı faktörler (CSF), kemokinler, tümör nekroz faktörler (TNF) ve transforme edici büyüme faktörü- (TGF) olarak sınıflandırılırlar.

İmmün sistemden salgılanan sitokinlerin önemli bir bölümü interlökinlerdir. İnterlökinlerin başlıca görevleri immün sistem hücrelerini uyarmaktır. İnterlökinler reseptör zinciri benzerliği ve dizi homolojisi veya fonksiyonel özelliklerine dayalı olarak sınıflandırılmıştır (Akdis ve ark,2011). Bu çalışmada IL-21 ve IL-33'ün allerjik rinitteki patogenezi incelenmiştir.

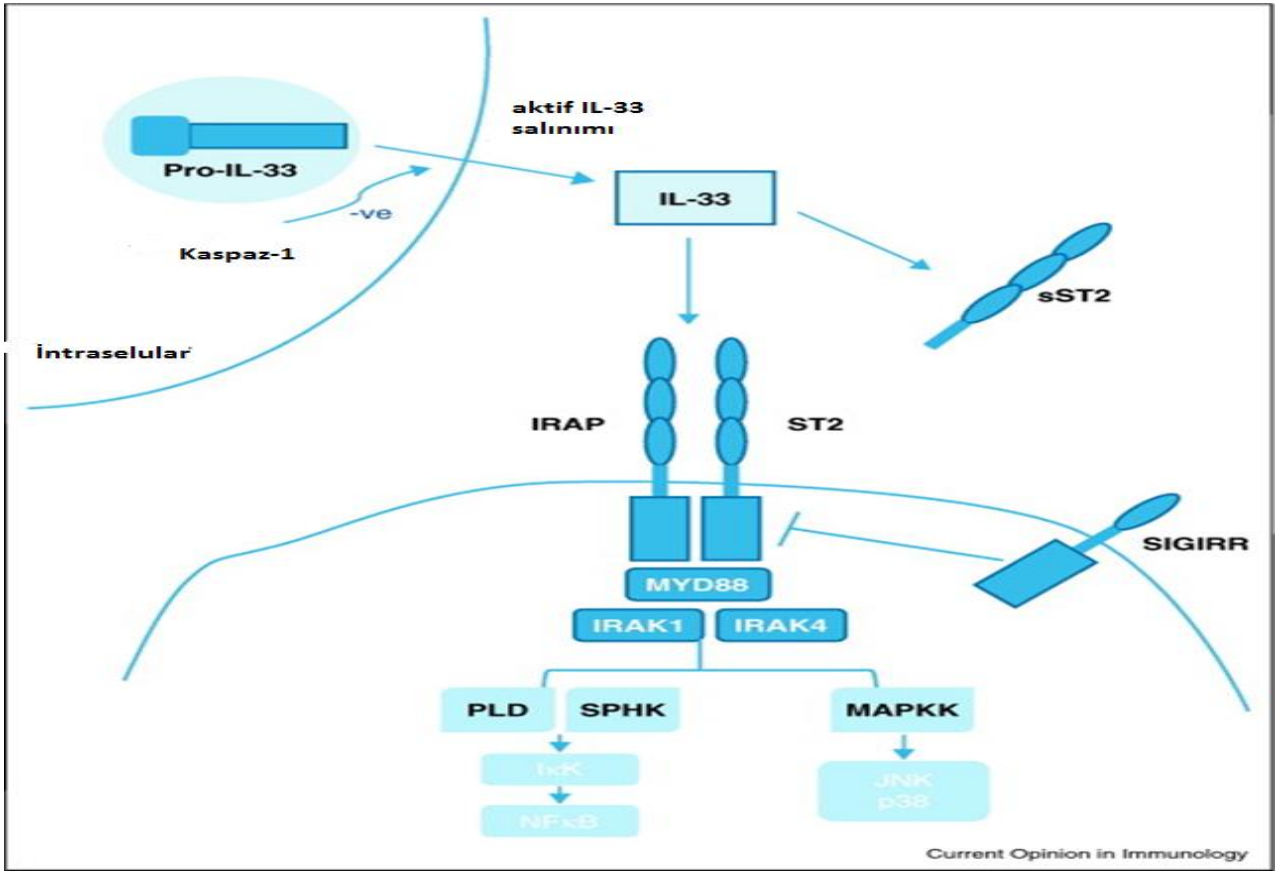
2.2. İnterlökin-33

İnterlökin-33 (IL-1F11) ilk olarak Baekkevold ve arkadaşları (Baekkevold ve ark, 2003) tarafından yüksek venüllerin endotel hücrelerinde bir nükleer faktör (*NF-HEV*) olarak bulunmuş olup IL-1 sitokin ailesinin 11. üyesidir. Bu sitokin insan kromozomunda *9p24.1*, fare kromozomunda *19qC1* de kodlanmıştır. İnsan ve fare IL-33' ü %48 benzerlik göstermektedir (Akdis ve ark, 2011).

İnterlökin-33 hücre içi etkili bir sitokindir ve bir DNA bağlayıcı nükleer faktör olarak işlev görebilir. β -trefoil (yonca) protein şeklinde olup moleköl ağırlığı 30 kd'dir. Yüksek protein içeren *N-terminal* domainini bulundurmaktadır. Aynı zamanda heterokromatin ve mitotik kromozoma lokalize olmuş çekirdekte bulunmaktadır. Bu yüzden bu sitokin özellikle çekirdek içinde lokalize olur. *N-terminal* kısmında bir *helezon-turn-heliks* motifi ile sarmal DNA yapısına benzemekte olup transkripsiyon faktörlerinden olan *engrailed* ve *pou* yapısıyla homoloji göstermektedir (Carriere ve ark, 2007; Roussel ve ark, 2008). IL-33 moleküler özellikleri, IL-1 α / β , IL1-Ra (IL-1 reseptör antagonisti) ve IL-18 sitokinlere benzerdir (Werman ve ark, 2004). İnterlökin-1 ailesinin birçok üyesi IL-1 β , IL-18 gibi sitokinler, ilk sitozol içinde, sinyal peptidlerinin amino asit sekanslarını eksikliği ve hücre aktivasyonunun etkisiyle fonksiyonu bulunmayan ön-madde biçimleri olarak sentezlenmektedir. Hücrelerdeki belirli uyarıcılardan sonra ön-madde proteolitik süreçle bölünmekte ve biyolojik olarak aktif hale gelmektedir. Hücre dışına salgılandıktan sonra inflamasyon aktivasyonu yoluyla kaspaz-1 vasıtasıyla bölünür. Ancak, inflamasyon aktivasyonu ile bağlantılı apoptoz sırasında kaspaz-aracılı proteolitik bölünme aktivasyonu IL-33 salgılanması / salınması için gerekli değildir. Tersine, bir kaspaz ile bölünme olmaksızın nekrotik hücrelerden salınan IL-33 biyolojik aktiviteye sahiptir (Cayrol ve Girard, 2009; Ohno ve ark 2009).

İnterlökin-33 enfeksiyon ya da travma sırasında nekrotik hücre ölümüne uğrayan hasarlı hücreler tarafından salınıyor olması, bir endojen tehlike sinyali ya da uyarıcı olarak işlev görebildiğini göstermektedir (Moussion ve ark, 2008 Lamkanfi ve ark, 2009; Kamekura ve ark,2012). Patojenler ya da allerjenlerin yanı sıra diğer çevresel ajanlar (örneğin çevre kirliliği) nekrotik hücre ölümünün ardından IL-33 salgılanması doku hasarını tetikleyebilir. Fare arter duvarları, akciğerler ve bağırsak dokularında IL-33 enjekte edildiğinde etkileyici patolojik değişiklikler gösterilmektedir. Bununla birlikte, epitel hücrelerinden IL-33 indüksiyonu ve salgılanma mekanizması tam olarak bilinmemektedir. İnterlökin-33 ayrıca IL-4, IL-5 ve IL-13 üretimini de uyarmaktadır. Diğer taraftan IL-33, allerjene bağlı veya bağlı olmayan bir şekilde güçlü bir proinflamatuvar sitokindir. İnterlökin-33' ün bu rolü allerjik

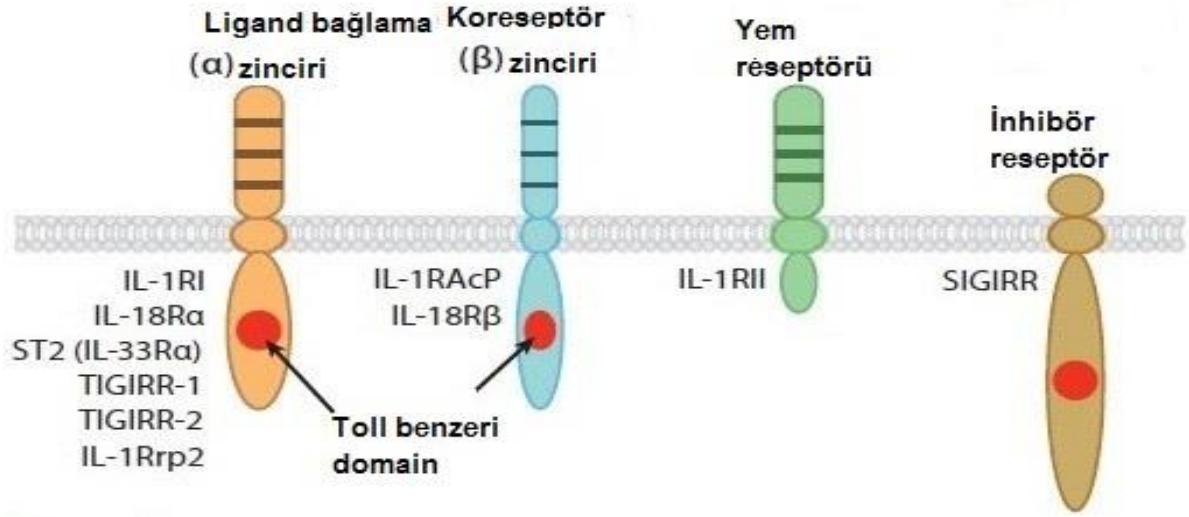
reaksiyonun sensitizasyon aşamasında daha güçlü olduğu bildirilmiştir (Rogala ve Glück, 2013).



Şekil 5. IL-33 sinyal yolları (Lloyd, 2010)

2.2.1. Reseptör ve sinyal mekanizması

İnterlökin-33 reseptörü (IL-33R) ST2'dür ve Toll-like reseptör (TLR) / IL-1R (TIR) süper ailesine ait IL-1R ailesinin bir üyesidir (Deniz, 2011). ST2 gen proteininin üç izoformudur. Bunlar, membrana bağlı form (T1/ST2 veya ST2L), çözünür form (sST2) ve varyant form ST2 olarak tanımlanmaktadır (Lloyd, 2010). Membrana bağlı form olan ST2L transmembran formudur ve IL-1R'e benzer bir yapıya sahiptir. ST2 formlarından çözünür form ise, IL- 33'ün biyolojik faaliyetleri için bir yem reseptörü olarak tanımlanmaktadır (Glück ve ark, 2012).



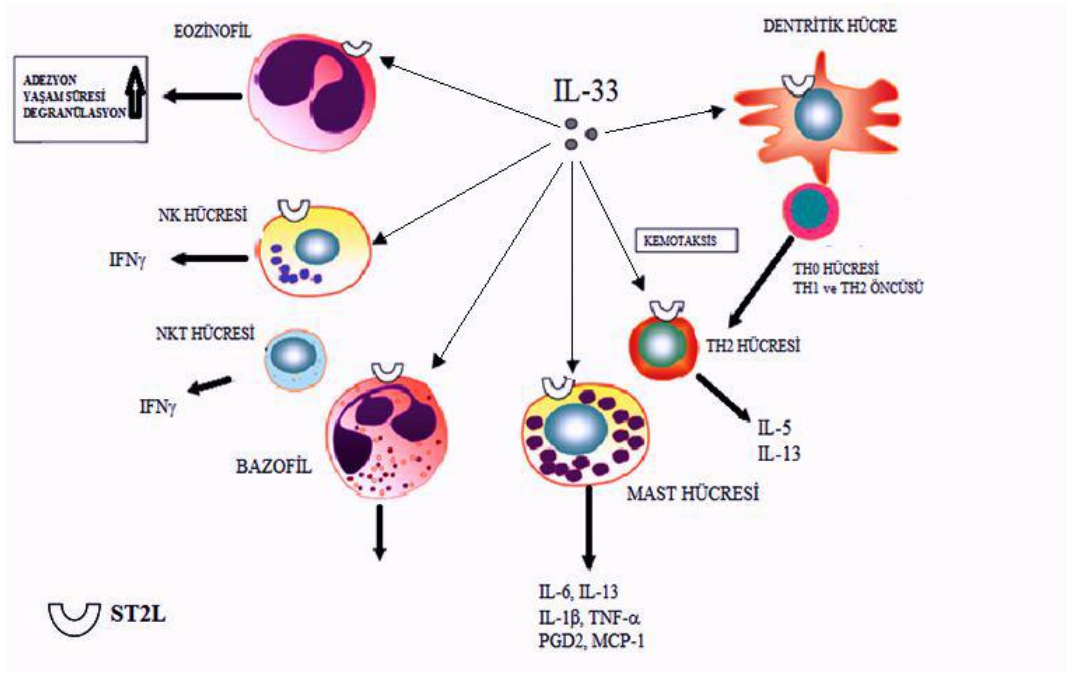
Şekil 6. IL-1 ailesi reseptörleri (Dinarello, 2009)

İnterlökin-33 reseptörler Th2 hücrelerinin üzerinden ifade edilmektedir (Kamekura ve ark, 2012). Ancak aynı zamanda, mast hücreleri, bazofiller, makrofajlar, insan ve fare iNKT hücreleri, NK hücrelerinde bulunmuştur (Smithgall ve ark, 2008; Joshi ve ark, 2010; Lloyd 2010). Diğer taraftan nötrofillerde ise bulunmamıştır.

2.2.2. İnterlökin-33' ün Bağışık yanıtındaki rolü

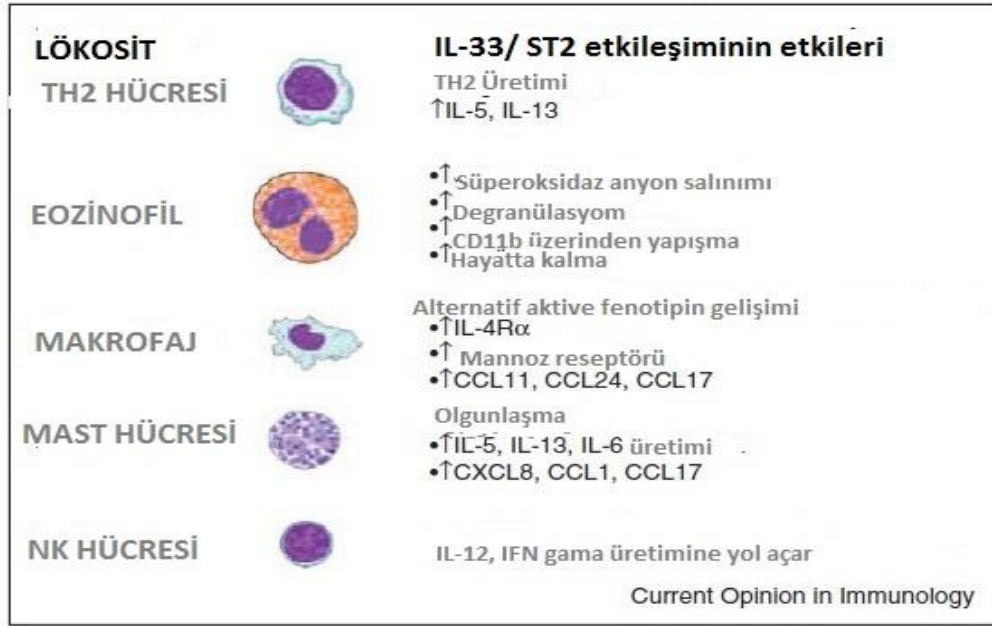
İnterlökin-33 potansiyel olarak *in vitro* polarize Th2 hücreleri (Schmitz ve ark, 2005) ve diğer reseptörünü taşıyan hücrelere etkisiyle IL-4, IL-5 ve IL-13 de dâhil olmak üzere proenflamatuar Th2 ilişkili sitokinlerin üretimini harekete geçirir. Ayrıca, IL- 33 ile hematopoietik hücrelerin uyarılmasıyla, IL- 6 ve IL- 8 de dâhil olmak üzere diğer enflamatuar sitokinler ve kemokinler üretilmektedir (Cherry ve ark, 2008). Bu etkileriyle IL-33'ün ve Th2 bağışık yanıt için potansiyel rolü olacağını göstermektedir.

IL-33 yapısal olarak, epitel dokular tarafından birden fazla dokuda eksprese edilir. Örnek olarak burundan, bronşiyal veya oküler epitel hücreleri, periferik kan ya da kordon kan progenitor hücrelerinden, lenfoid organlar, beyin, embriyo, iltihaplı dokular, düz kas hücreleri, keratinositler, histiositler, dendritik hücreler, insan ve fare mast hücreleri verilebilir (Rogala ve Glück, 2013). İnterlökin-33, farelerde proliferasyonu, migrasyon ve insan vasküler endotel hücrelerinin morfolojik farklılaşmasını ve vasküler geçirgenliği artırarak anjiyogenezi (damar yapımı) uyarmaktadır (Choi ve ark, 2009).



Şekil 7. IL-33'ün hücreler üzerine etkileri (Deniz,2011)

İnterlökin-33'ün reseptörü olan ST2, temel olarak periferik kan ya da kordon kanı progenitor hücrelerinden; fare peritoneal ve kültürlenmiş mast hücreleri kemik iliğinden elde edilen ilgili türetilmiş insan mast hücreleri (MCs) üzerinde ifade edilir (Ali ve ark, 2007; Ho ve ark,2007; Palmer ve ark,2008). İnsan kordon kan hücrelerinin CD34⁺ hematopoietik progenitor hücrelerin de ST2 ve IL-33 ifadesi için çeşitli sitokinler ve kemokinleri üretir (Allakhverdi ve ark, 2009). CD34⁺ hematopoietik progenitor hücrelerin sayısı allerjik hastalardan elde edilen periferik kan da artmaktadır (Ohno ve ark, 2012).



Şekil 8. IL-33'ün ST2 reseptörü ile etkileşiminin sonuçları (Lloyd, 2010)

İnterlökin-33'ün mast hücrelerinin yüzeyindeki ST2 reseptörüne etki ederek, IL-1 β , IL-6, IL-13 ve TNF- α gibi çok sayıda proinflatuar sitokinler oluşturulması için mast hücrelerini aktive etmektedir. Diğer taraftan IL-33, mast hücreleri üzerinde bulunan Fc ϵ RI reseptörüne bağlanarak histamin salınımı için uyarır. Yakup otuyla indüklenen IL-33 endojen olarak IgE ile Fc ϵ RI ile çapraz bağlanarak histamin salınmasını geliştirmek için bağ doku tipi mast hücreleri (CTMCs) ve mukosal mast hücrelerini (MMCs) uyardığını gösterilmektedir (Haenuki ve ark, 2012).

Mast hücreleri ST2 reseptörü aracılığıyla IL-33 tanır ve NF- κ B aktivasyonunu ve IL-1, IL-6, IL-8, IL-13, TNF gibi proinflatuar sitokinlerin transkripsiyonuna başlatır. İnterlökin-33 IgE/antijen Fc ϵ RI sinyalleri yoluyla mast hücrelerinin kostimülasyonu varlığı veya yokluğunda da sitokin üretimini uyarabilir. İnterlökin-33 mast hücrelerinde CXCL8'in üretimini artırmak için IgE reseptörüyle çapraz bağlantı yapar (Silver ve ark, 2010). İnsan mast hücrelerinde artmış IgE ve lökotrien sentezinin degranülasyonuna aracılık eder (Lloyd, 2010) .IL-33 mast hücreleri üzerindeki ST2 / IL-33 etkileşimi olgunlaşmasını ve aktivasyonunu teşvik eder; aynı zamanda doku içindeki yerleşimini sağlamak için görev alabilir (Likura ve ark, 2007). IL-33 farelere intradermal (deri içi) enjeksiyonu ST2 yoluyla deri mast hücre aktivasyonuna bağlı deri iltihabı gelişmesine neden olmaktadır (Hueber ve ark, 2011). Aktif mast hücrelerinden ve bazofillerden salgılanan histamin allerjik rinitli

hastalarda hapşırma için en önemli kimyasal mediyatörlerin olarak kabul edilmiştir (Sarin ve ark, 2006).

İnterlökin-33 üreten hücrelerden biri de hematopoietik hücrelerden makrofajlardır. Makrofajlar iki ayrı sınıfta incelenebilir; M1 (klasik aktive edilmiş) ve M2 (alternatif aktive edilmiş) olarak kabul edilir. İnterlökin-33, M1 ifade edilen insan kemik iliği hücre-türevli makrofajlardır (Ohno ve ark; 2012). İnterlökin-33 polarizasyon ve bir M2 / AamΦ aktivasyonunun arttırılması allerjik cevapların gelişmesine katkıda bulunduğu bildirilmiştir (Ohno ve ark, 2012). Bunun yanında IL-33, alveolar makrofajlar fenotipi üzerinde önemli bir etkisi vardır. Bunlar (Muzitani ve ark,2014);

- (i) IgE, akciğerde IL-33+ ve ST2+ alveolar makrofajlar ve ST2+ CD4+ T hücrelerinin seviyelerinde artışa yol açmaktadır.
- (ii) Makrofajlardan oluşan IL-33; IgE aracılı hava yolu enflamasyonunun gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır.
- (iii) İnterlökin-33, makrofaj ve CD4 ile ilişkili mekanizmalar yoluyla hava yolu enflamasyonunun oluşmasına katkı yapmaktadır.

İnterlökin-33'ün bazofiller üzerinde önemli etkiler vardır. Bazofiller kan dolaşımında sadece % 1 olarak var olsa da, allerjik reaksiyonların temelinde önemli rol oynamaktadır. IgE bazofillerin yüzeyinde bulunan yüksek afiniteli IgE reseptörü (FcεRI) bağlanmaktadır. Bundan başka; IL-33 IL-3 ile sinerji oluşturarak CD11b'nin bazofiller tarafından ifade edilmesine ve IL-4 üretilmesine teşvik eder (Lloyd,2010). İnsan kanı türevli bazofiller ST2 aracılığıyla, IL-1 beta, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-13 ve granülosit makrofaj koloni uyarıcı faktör gibi proinflamatuvar sitokinler üretirler (Smithgall ve ark,2008; Suzukawa ve ark, 2008a).

İnsan eozinofilleri IL-33'ün reseptörü ST2 molekülünü oluştururlar. (Cherry ve ark, 2008). İnterlökin-33, aynı zamanda kuvvetli upregülasyonu sayesinde CD11b ifadesi yoluyla eozinofilin yapışmasını uyarır ve eozinofilin hayatta kalmasını artırır (Suzukawa ve ark, 2008/b).

İnterlökin-33, ST2 ile sitokinler / kemokinler üretimini indüklediği bilinmektedir. Coyle ve arkadaşları (1999) tarafından Anti-IL-33 antikoru, önemli bir Th2 sitokin üretimini *in vivo* olarak, eozinofilik iltihap ve solunum yolu hiperaktivitesi azalttığını bildirmiştir. Bunun aksine, intranazal IL-33 uygulaması, allerjik patolojiyi indüklemiş olduğuna dair çalışmalar mevcuttur (Kondo ve ark, 2008). Bu gözlemler, IL-33, astım ve alerjide önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir.

2.2.3 İnterlökin-33'ün Otoimmün Hastalıklardaki Rolü

İnterlökin-33 aşırı ve/veya uygun olmayan üretimi allerjik ve otoimmün hastalıklar gibi çeşitli bozuklukların gelişiminde rol oynadığı düşünülmektedir (Nabe ve ark,2015).

İnterlökin-33 en çok normal insan dokularında endotel hücrelerinin çekirdeğinde bunun yanı sıra insan tümörlerinde ifade edildiği bulunmuştur (Akdis ve ark, 2011). Buna ek olarak, IL-33 yüksek düzeylerde fibroblastik retiküler hücreler (FRCs), cilt keratinositleri ve mide epitel hücreleri dâhil olmak üzere lenfoid doku ve bazı epitel tiplerinde bulunmuştur (Moussion ve ark, 2008). Örneğin, IL-33 ekspresyonu, mide mukoza yüzeyi ve mide bezlerinin epitel hücrelerinin yanı sıra tonsil kript ve salgı bezlerinin epitel hücreleri ve deri keratinositler de tespit edilmiştir.

İnterlökin-33 ekspresyonu; karaciğer, iskelet kası, böbrek (peritübüler kılcal damarlar), prostat ve cilt dâhil olmak üzere birçok dokuda mikrovasküler küçük kan damarlarının içinde endotel hücre çekirdeğinde bulunduğu gözlenmiştir (Moussion ve ark, 2008). Ayrıca *Romatoid Artrit* (RA) hastalarının eklem sıvısında bol miktarda IL-33 bulunduğu bildirilmiştir (Carriere ve ark,2007). *In-situ hibridizasyon* çalışmalarında, endotelyal hücreleri, *Romatoid Artrit*, *Crohn* hastalığı olan hastalardan alınan kronik iltihaplı dokuda IL-33'ün önemli bir kaynağı olduğu gösterilmiştir (Carriere ve ark, 2007).

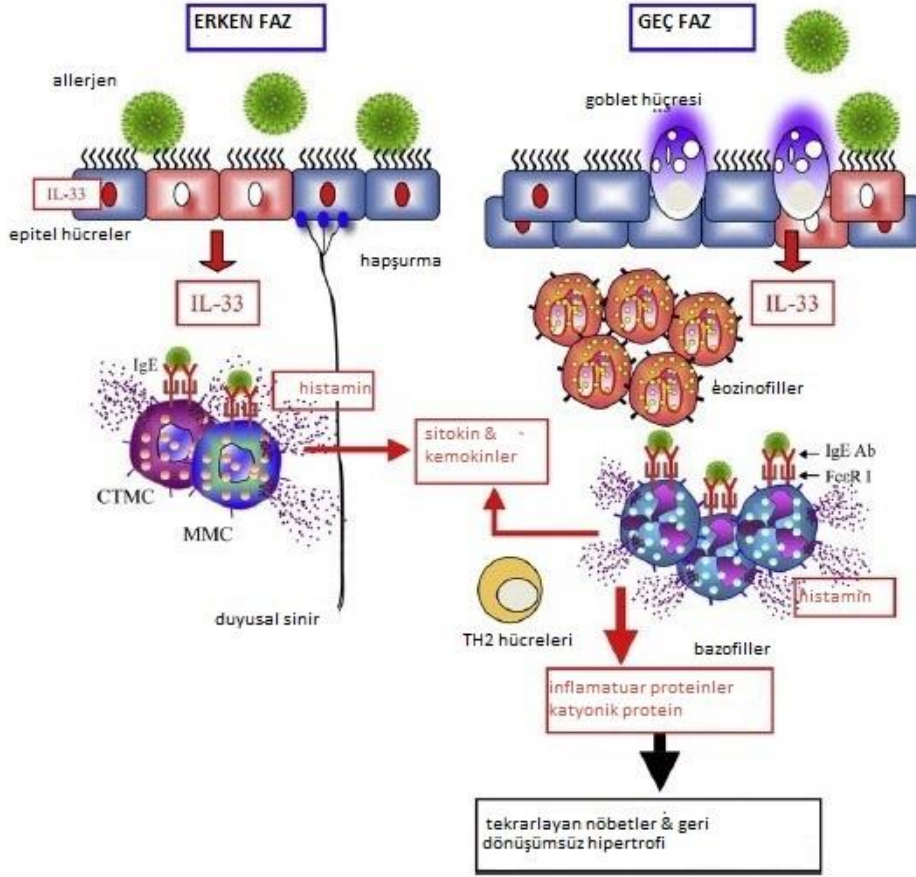
İnterlökin-33'ün reseptörü olan çözünür ST2 düzeyleri ağır travma veya sepsis durumunda yükselir. Kemirgenler ile yapılan çalışmalar; IL-33, mekanik stres sonrası *ateroskleroz* sırasında kalp fibroblastlar tarafından ve endotel hücreleri tarafından kalpte ifade edildiği gösterilmiştir (Miller ve ark, 2008).

Beyin ve omurilik IL-33'ün en çok ifade edildiği organlardandır (Schmitz ve ark,2005). Buna bağlı olarak multipl skleroz (MS) hastaları normal bireylerle karşılaştırıldığında; IL-33 düzeyi dikkat çekecek derecede yüksek olduğu bulunmuştur (Christophi ve ark, 2012). Ayrıca IL-33 ile Th2 sitokin üretimini indükleyerek nematodlara karşı konak savunması için önemli olduğu kabul edilir (Nabe ve ark, 2015).

2.2.4. İnterlökin-33'ün Allerjik Hastalıklardaki Rolü

Hematopoietik hücreler; IL-33'ün uyarılmasıyla, IL-6 ve IL-8 de dâhil olmak üzere diğer enflamatuar sitokinleri ve kemokinleri üretmektedir (Cherry ve ark, 2008). Bu aktivasyonlar IL-33'ün Th-2 tip immün cevapta artırıcı rolünün olduğunu düşündürmektedir

ve bu yüzden IL-33 allerjik inflamatuvar hastalıklarla yakından ilişkili olduğu düşünülmektedir (Bonanno ve ark, 2014).



Şekil 9. Allerjik rinit patogenezinde IL-33'ün rolü (Haenuki ve ark, 2012)

İnterlökin-33, havadaki allerjenler, virüsler ve hava kirleticileri gibi farklı çevresel uyaranlara tarafından epitel hücrelerinin yaralanması sonucu salınır (Rogala ve Glück, 2013). Bu nedenle IL-33'ün iltihaplı hastalık ile yakın ilişkili olduğu düşünülmektedir. Astımlı hastalarda bronşiyal epitelinde (Kurowska Stolarska ve ark, 2009; Prefontaine ve ark, 2010), atopik dermatitli hastaların deri lezyonlarında (Pushparaj ve ark, 2009), Japon sedir polinosiz hastalarında (Sakashita ve ark, 2008) IL-33 seviyesi sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında yüksek seviyelerde olduğu bildirilmiştir. IL-33 geninde tek nükleotid polimorfizmleri (SNPs) Astım eozinofili ve allerjik rinit ile ilişkisi olduğu diğer taraftan ST2 lokusundaki SNP ise çocukluk astımı, astım ve hava yolu fonksiyonlarıyla ilişkili olduğu bildirilmektedir (Sakashita ve ark, 2008; Gudbjartsson ve ark, 2009).

2.3. İnterlökin-21

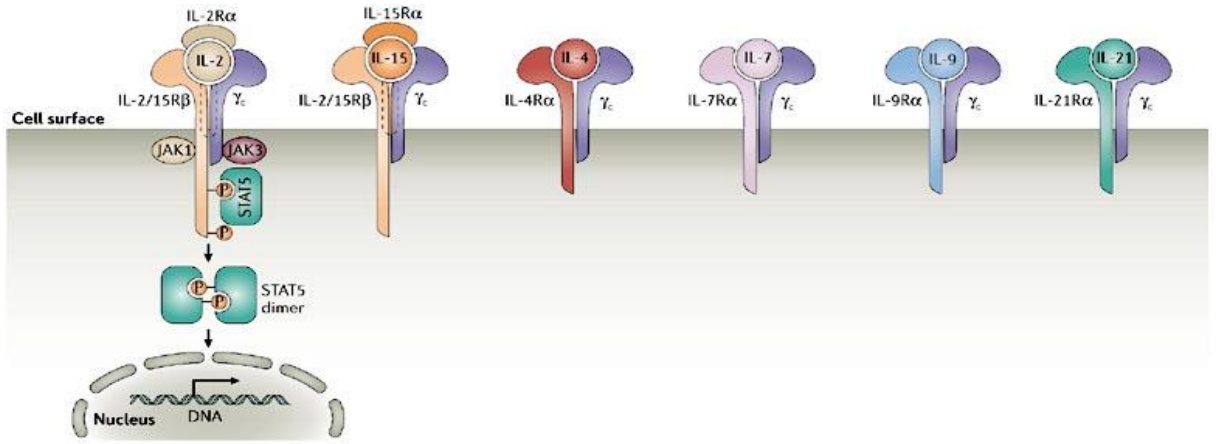
İnterlökin-21; IL-2, IL-4 ve IL-15 ile sekans homolojisi olan tip 1 sitokin ailesinin daha sonradan keşfedilen bir üyesidir (Gong ve ark,2013). IL-21; 4 sarmal kangal oluşturan 131 amino asitten oluşmaktadır (Akdis ve ark,2011).

İnterlökin-21, IL-2 ile yapışık olarak 4q26-q27 kromozom lokusunda yer almaktadır. IL-15 de aynı gen kümesinde yer almasından dolayı birbiriyle yakın ilişkili bu 3 gen çoğalma sırasında ortaya çıkabildiği düşünülmektedir (Akdis ve ark, 2011). İnsan IL-21 'in tahmin edilen moleküler ağırlığı 15 kd'dir ve buda %57 oranında fare IL-21 ile benzerlik gösterir. İnterlökin-21 'in fonksiyonları şu şekilde sıralanmaktadır (Jen ve ark, 2014).

1. Dendritik hücrelerin matürasyonu aktivasyonunu inhibe eder ve NK hücrelerinin etkinliğini artırır (Parrish- Novak ve ark, 2000; Brandt ve ark, 2003).
2. CD4+ ve CD8+ T hücrelerinin aktivasyonu, çoğalmaları ve farklılaşmalarını artırır ve hücrelerin yaşamasını düzenler (Strengell ve ark, 2002; 2003; Peluso ve ark, 2007).
3. Bellek hücrelerinin ve plazma hücrelerinin dönüşmesini sağlar (Jen ve ark, 2014).
4. Ya kendi başına ya da diğer T-hücresi kökenli sitokinler ile IgM nin IgG, IgA ve IgE ' ye sınıf değişimini düzenler (Jen ve ark, 2014).
5. IL-10'u indükleyerek baskılayıcı etkilerine aracılık eder (Spolski ve ark, 2009).

2.3.1. İnterlökin-21'in Reseptör ve Sinyal Mekanizması

İnterlökin-21 ilk olarak reseptörleri bulunmadığı için *novel* IL reseptörü olarak adlandırılmıştır (Parrish- Novak ve ark, 2000; Ozaki ve ark, 2000). Ancak IL-21'in reseptörü olan IL-21R temel olarak IL-2 reseptörünün β zinciriyle sekans homolojisi göstermekte ve γ c sitokin ailesinde yer almaktadır. IL-21 reseptörü, IL-21R'nin γ c zinciri IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 reseptör kompleksleri tarafından ortak paylaşılmaktadır (Parrish - Novak ve ark, 2000). Bu nedenle IL-21'in fonksiyonel reseptörü, γ c ve IL-21R'den oluşmaktadır (Şekil 10).

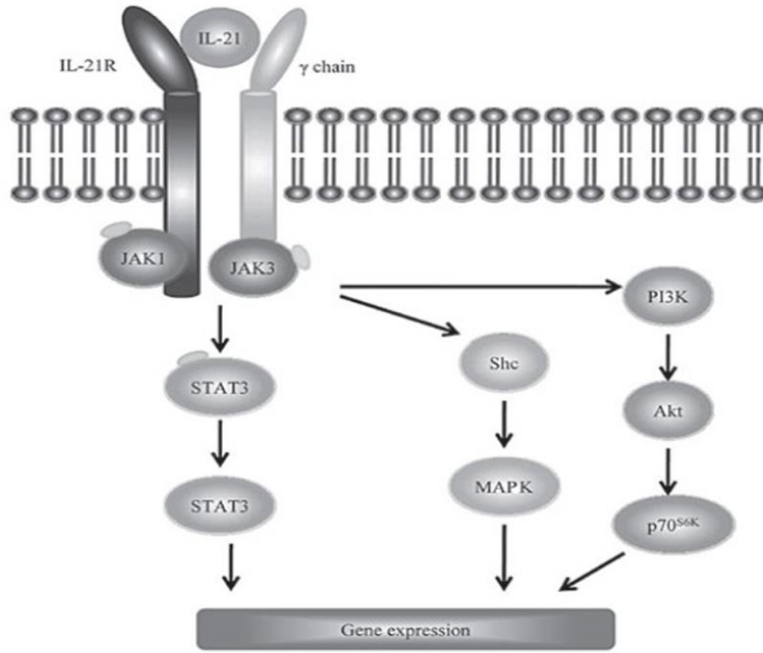


Copyright © 2006 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Immunology

Şekil 10. γ c sitokin ailesinin ortak sitokin reseptörleri. (Waldmann *Nature Reviews Immunology* 6, 595–601 (August 2006) | doi:10.1038/nri1901)

IL-21 ile uyarılan hücrede sinyaller Jak (Janus aktive kinazlar) –STAT (sinyal ileticisi ve transkripsiyon aktivatörü) yolu üzerinden iletilmektedir ve bunlar Jak-1 ve Jak-3' ü içermektedir (Habib ve ark, 2002). Bu sinyaller STAT1, STAT3 ve STAT5 aktivasyonu ile hücrelerde gen transkripsiyonu, fosforilasyonu ile aktive olur. IL-21'in reseptörü olan IL-21R, sitoplazmik alan da 6 tirozin içermektedir. Bunlardan biri; Tyr510 dur. Tyr510 tirocini STAT-1 ve STAT-3 için fosforlanarak yerleşim alanı olarak görev alır.

İnterlökin-21 üretimi lenfoid hücrelerde sınırlandırılır, IL-21R bağışıklık hücrelerinde (örneğin, uyarılmamış ve aktive olmuş T hücreleri, B hücreleri, NK hücreleri, dendritik hücreler ve makrofajlar), nonimmün hücrelerde de (keratinositler ve endotelial hücreler) olduğu gibi yüksek miktarda eksprese edilir (Spolski ve Leonard, 2008; Sarra ve ark, 2012).



Şekil 11. IL-21 ‘in sinyalizasyon aşamaları (Gong ve ark, 2013)

2.3.2 İnterlökin-21’in Bağışık Yanıt ve Hücresel Ağlardaki Rolü

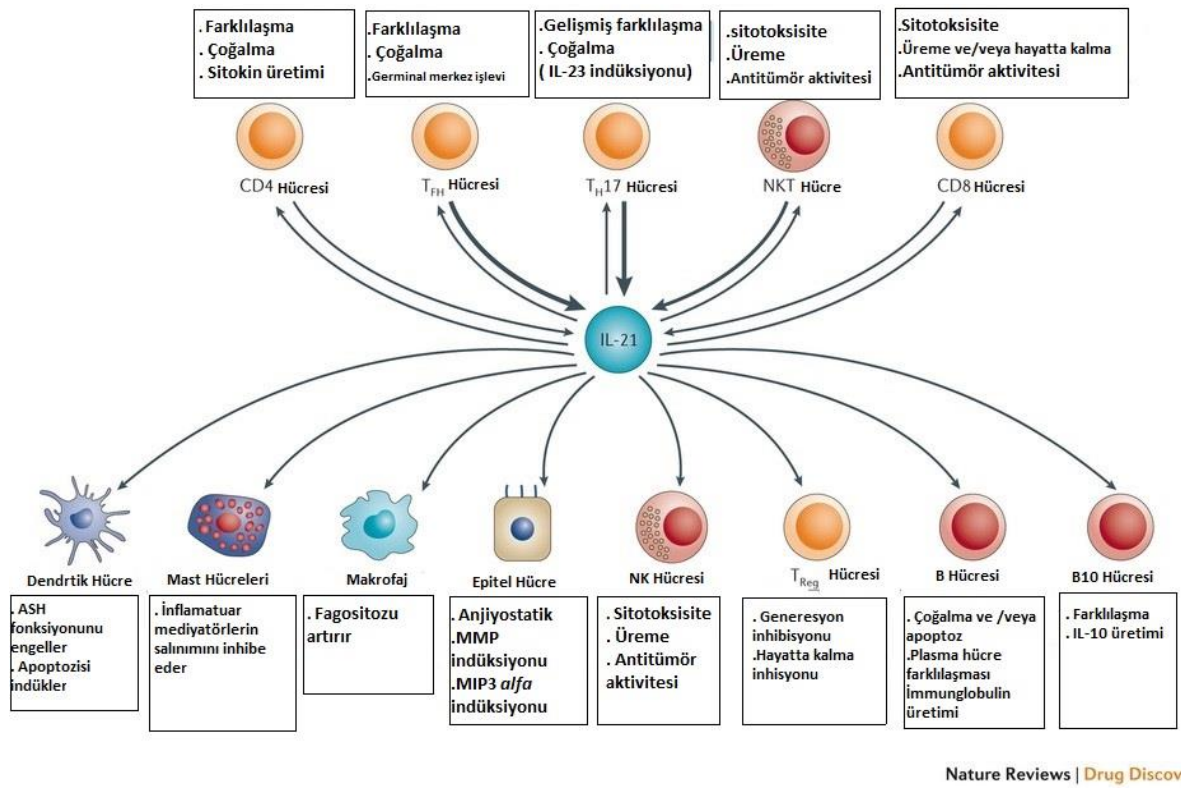
İnterlökin-21, CD4, T ve NKT hücreleri üzerinde aynı zamanda CD8+T hücreleri, B hücreleri, dendritik hücreler, makrofajlar ve keratinositler üzerinde etkileri tespit edilmiştir (Parrish- Novak ve ark, 2000; Ozaki ve ark, 2000; Jin ve ark, 2004) . İnterlökin-21, B hücresi ile ilişkili olarak çoğalması plazma hücrelerine dönüşmesi, antikorlarda izotip değişimi, bellek hücrelerin oluşması ve apoptoza farklılaşmasında etkileri bulunmaktadır (King, 2009; Yu ve Vinuesa, 2010). Bazı çalışmalarda IL-21’ in, B hücreleri tarafından IgE üretimini artırdığını ya da baskıladığını bildirmişlerdir. Pene ve arkadaşları (2006) pürifiye edilmiş insan periferik kanında ve dalak B hücrelerinde IL-21’in IL-4 ile uyarılmış germline *Ce* transkripsiyonun inhibe edemediğini ama IL-21R genotip bağımlı bir şekilde IFN- α indüksiyonu yoluyla IgE üretimini azalttığını bildirmişlerdir.

İnterlökin-21 reseptörü, OVA-duyarlı farelerden toplanan dalaktaki B hücre yüzeyi üzerinde ifade edildiği bildirilmiştir (Tamagawa-Mineoka ve ark, 2011), Pre-B hücrelerinde

ise düşük seviyelerde bulunmaktadır. IL-21 koşullara bağlı olarak B hücrelerine hem pozitif hem de negatif yönde düzenleyici etkisi bulunmaktadır (Hiromura ve ark, 2007).

İnterlökin-21, foliküler yardımcı T (Liu ve ark, 2012) ve Th-17 hücrelerinin (Raveney ve ark, 2013; Terrier ve ark, 2012) farklılaşmasını uyarır ayrıca *in vitro* ve *in vivo* anti-tümör etkilere sahiptir (Petrella ve ark, 2012; Santegoets ve ark, 2013).

IL-21R'in B hücreleri üzerindeki ekspresyonu T hücreleri, NK hücreleri, dendritik hücreler ve monosit dâhil olmak üzere çok daha yüksek bulunmaktadır (Jen ve ark, 2014). Allerjik hastalarda naif ve bellek B hücrelerinin IL-21R ekspresyonu ile seviyelerinin önemli ölçüde arttığı gözlenmiştir (Jen ve ark, 2014) .



Şekil 12. IL-21'in hücreler üzerine etkileri (Spolski ve Leonard, 2014)

NK hücrelerinde, IL-21 *in vivo* ve *in vitro* olarak sitotoksitesini artırır (Wang ve ark, 2003). İnterlökin-21, sıçangil ve insan NK hücreleri her ikisinde olgunlaşması ve aktivasyonu üzerinde etkisi vardır fakat IL-21 fare NK hücreleri üzerinde daha belirgin etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (Deenick ve ark, 2013).

İnterlökin-21 dendritik hücrelerin olgunlaşmasını ve fonksiyonunu da olumsuz şekilde düzenleyebilir (Spolski ve Leonard; 2008). İnterlökin-21 polarize Th2 hücrelerinin sitokin

üretimini azaltır ve anti aptotik faktör Bcl-2'yi azaltarak Th2 hücre apoptozunu indükler (Lin ve ark, 2014).

IL-21'in Th2 hücrelerinden öncelikli olarak salgılandığı düşünülse de son zamanlarda T foliküler, T helperlar ve Th17 tarafından yüksek miktarda üretildiği gösterilmiştir. İlginç olarak IL-21 kendisi T foliküler helperların gelişimini düzenleyebilir. IL-21 aynı zamanda, Treg farklılaşması, fonksiyonlarını inhibe eder ve CD+4 ve CD+8 hücrelerinin Treg süpresyonuna dirençli kılar (Lajoie ve ark, 2014). Bu özellikle akciğerlerde ev içi akarlarla yapılan çalışma modelinde gösterilmiştir(Lajoie ve ark, 2014). Ancak IL-21'in, Treg fonksiyonunu hangi mekanizmayla bozduğu henüz açık değildir. Diğer taraftan eksojen olarak IL-21 uygulamasının; hem eozinofil sayısı, hem de makrofajlar, lenfositler ve nötrofiller sayıları üzerinde hiçbir etkisi olmadığı gösterilmiştir. (Bunjhoo ve ark, 2015)

2.3.3. İnterlökin-21'in Allerjik Hastalılardaki Rolü

İnterlökin-21 alerji ve astım ile ilgili yapılan çalışmalar kısıtlı olsada yapılan deneysel çalışmalar allerjik rinit, atopik dermatit (AD) ve atopik astım gibi çeşitli allerjik hastalıkların patogenezinde IL-21'ün bir rolü olduğunu desteklemektedir.

Allerjik rinitte IL-21, immünolojik yanıtların erken fazında; B lenfositlerin proliferasyonunu ve plazma hücresine dönüşümünü artırma ve sınıf değişiminde rol oynama, NK hücrelerin sitotoksite etkilerini artırma, dendritik hücrelerin maturasyonunu ve antijen sunumunu inhibe etme, fibroblastların proteaz ve degrade edici enzim sekresyonunu artırma, epitelyal hücrelerden kemokin salınımını artırma gibi işlevlere sahiptir (Spolski ve Leonar, 2008). IL-21 eksojen uygulanması allerjene özgü IgE üretimi üzerinde inhibe edici bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir. Kishida ve arkadaşlarının fare gıda alerjisi modelinde yaptığı bir çalışmada anafilaksiyi bloke etmesi bu bilgiyi doğrular niteliktedir (Kishida ve ark, 2007). Deneysel fare modellerinde, farelere eksojen IL-21 verilmesi, IgE sınıf değişimi rekombinasyonunu inhibe ederek allerjene özgü IgE üretimini baskıladığı saptanmıştır (Suto ve ark, 2002; Hiromura ve ark, 2007; Kishida ve ark, 2007). Bu bilgiler ışığında IL-21'in IgE oluşumunu inhibe ederek ve / veya farelerde B hücrelerinin apoptozunu uyarak allerjene-özgü IgE üretimini baskıladığını düşündürmektedir.

Farelerde allerjik hava yolu inflamasyon modelinde IL-21 ile duyarlaşma sırasında allerjene spesifik IgE oluşumunu inhibe ederek inflamasyon bölgesinde eosinofillerin toplanmasını azalmıştır. Diğer taraftan IL-21 reseptörü eksik olan farelerin inflamasyonlu

hava yollarında, allerjenle uyarılan eozinofil infiltrasyonunu azalmıştır (Frohlich ve ark, 2007 Tamagawa-Mineoka ve ark,2011).

Atopik dermatitli hastalarda son zamanlarda birçok çalışmada IL-21 ve IL-21'in reseptörünün doku düzeylerinin yüksek olduğu gösterilmiştir (Caruso ve ark,2009; Jin ve ark, 2009). Ayrıca, atopik astıma yatkınlık ile IL-21 deki polimorfizmi arasında bir ilişki olduğu bildirilmiştir (Gong ve ark, 2013). Diğer taraftan eksojen olarak IL-21 uygulanması Th2 aracılı allerjik hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde IL-21'in kullanılması düşünülmektedir (Lin ve ark; 2014) .

2.3.4. İnterlökin-21'in Otommünite ve Diğer Hastalıklardaki Rolü

IL-21/IL-21R, çeşitli insan otoimmün hastalıkların patogeneğinde rol aldığı çalışmalarda gösterilmiştir. *Sistemik lupus eritematozus* (Jen ve ark, 2014) ve *romatoid artrit* (Yuan ve ark, 2011) bulunan hastalarda serum IL-21 düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. *Sistemik skleroz* hastalarında IL-21'in seviyesinin arttığı ve vasküler endotelyal büyüme faktörü indüksiyonu yoluyla sistemik skleroz patogeneğinde rol oynadığı düşünülmektedir (Distler ve ark, 2005). İnterlökin-21; melanomalar, fibrosarkoma (Wang ve ark, 2003) ve pankreas karsinomalarının (Ugai ve ark, 2003) büyümesinin inhibe ettiği bildirilmiştir. Diğer taraftan IL-21R ekspresyonu, enflamatuvar bağırsak hastalığı, *Helicobacter pylori* (Caruso ve ark, 2007) enfeksiyonu, gastrit epitelyum üzerinde rapor edilmiştir. IL-21 *H. pylori* enfeksiyonu sırasında, Th1 ve Th17 cevaplarını düzenleyerek enfeksiyonun ve gastritin kontrolünde önemli bir rol oynamaktadır.

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Allerjik rinit patogeneğinde IL-21 ve IL-33'ün rolünün araştırıldığı bu çalışmanın deneysel örnek hazırlama aşaması, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Laboratuvarında ve hazırlanan örneklerin interlökin düzeylerinin çalışılması Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Araştırma laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada kullanılan örnekler 20 Mart 2014 tarihinde onaylanan **64583101/2014/028** sayılı “*Allerjik Rinit Deneysel Hayvan modelinde Thymoquinon’un etkisi*” adlı çalışmadaki sıçanların burun doku parçaları ve çalışmadan artan serum örnekleri kullanılmıştır

3.1. Çalışma Grupları

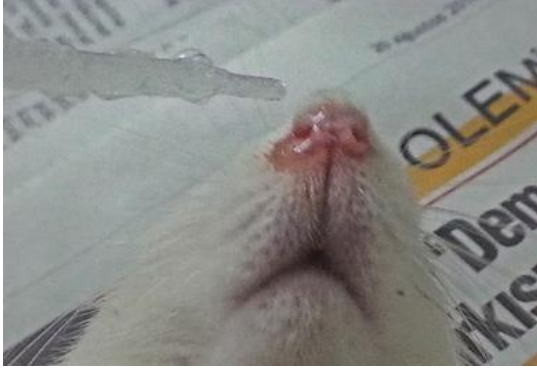
3.1.1. Kontrol Grubu: 30 mg/ml adjuvan AlHO₃, serum fizyolojik (SF) içinde her sıçana 1 mL i.p. gün aşırı 7 kez uygulanmıştır. 15-21 günlerde 7 kez SF nazal damla uygulanmıştır.

3.1.2 Allerjik Rinit Grubu: Allerjik rinit geliştirmek için, 30 mg/ml adjuvan AlHO₃ + 0,3 mg OVA, serum fizyolojik (SF) içinde her sıçana 1 mL i.p. gün aşırı 7 kez uygulanmıştır. 15-21 günlerde 7 kez %2 lik OVA SF içinde nazal damla olarak uygulanmıştır.

3.1.3 Kortikosteroid+Allerjik Rinit Grubu: 30 mg/ml adjuvan AlHO₃ + 0,3 mg OVA, serum fizyolojik (SF) içinde her sıçana 1 mL i.p. gün aşırı 7 kez uygulanmıştır. Sensitizasyon döneminden sonra, 15-21 günlerde %2 lik OVA SF içinde 7 kez nazal damla olarak uygulanırken, ayrıca bu dönemde sıçanlara kortikosteroid olan deksametazon ampul (Dekort)’den 1 mg/kg i.p. olacak şekilde 7 gün boyunca her gün enjeksiyon yapılmıştır.

3.2. Materyal Toplanması ve Örneklerin Hazırlanması

Allerjik Rinit Deneysel Hayvan modelinde Thymoquinon’un etkisi’ nin araştırıldığı deneysel çalışmanın bitimini takiben, Xsilazine-Ketamin anestezisi altında sıçanlar bayıltılarak örnekler alınmıştır.



Resim 1. Sıçan nazal damla uygulanması

3.2.1. Nazal Sürüntü Örneklerinin Alınışı

Anesteziyle bayıltılan sıçanlardan cerrahi olarak burun konkalarından alınmış ve örnekler çalışılncaya kadar -80 °C'de saklanmıştır.

3.2.2. Kan Örnekleri

Derin anestezi altındaki hayvanlardan **intrakardiak** girişimle kan örnekleri alınarak 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj yapılarak plazmaları ayrıldı ve çalışılncaya kadar -80 C de saklanmıştır.

3.2.3. Doku Homojenizatının Hazırlanması

-80 derecede saklanan doku örnekleri çalışmak için kuru buz kullanılarak soğuk ortamda homojenize edildi. Bu amaçla doku örnekleri hassas terazi tartılıp; dokuları 1/10 oranında PBS (0.01 mol / L, pH 7,0-7,2) ile sulandırılmıştır (Tablo 2).

Tablo 2. Allerjik rinit modelinde sıçan burun dokusunda homojenize edilen örneklerin ağırlıkları

Örnek No	Allerjik rinit Grubu	Kortikosteroid+AR Grubu	Kontrol Grubu
1	118 miligram	71 miligram	100 miligram
2	126 miligram	50 miligram	122 miligram
3	78 miligram	65 miligram	110 miligram
4	100 miligram	70 miligram	114 miligram
5	67 miligram	35 miligram	114 miligram
6	40 miligram	91 miligram	83 miligram
7	37 miligram	63 miligram	85 miligram

Adnan Menderes Üniversitesi Merkez Laboratuvarında IKA WERKE T8-01 Netzgerat (IKA® ULTRA-TURRAX® dispersers) cihazında dokular mekanik güçle homojenize edilmiştir (Resim 2). Homojenize edilen dokular Adnan Menderes Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji anabilim dalında santrifüj (2000-3000 rpm de 20 dakika) edilip ertesi gün çalışılmak üzere +4 C ‘ye kaldırılmıştır.



Resim 2. Homojenizasyon işleminde kullanılan cihaz (IKA® ULTRA-TURRAX® dispersers)

3.3. İnterlökkin-21ve İnterlökkin-33 Analizi

IL-21 ve IL-33 her 3 gruptan alınan kan örnekleri ve doku örneklerinde araştırılmıştır. Kontrol Grubu (n=7), allerjik rinit grubu (n=7), kortikosteroid + allerjik rinit grubu (n=7) olmak üzere Xsilazine-Ketamin anestezisi altında alınan toplam 21 sıçan konka homojenizatlarında IL-21 ve IL-33 düzeyleri araştırılmıştır. Örnekler çift çalışılacak şekilde SunRed Bio Rat (IL-21) ELISA Kiti (Sunred Biological Technology, China) kiti ile üretici önerilerine uyularak Triturus (Grifols- United Kingdom) otomatik ELISA analizörü kullanılarak IL-21 ve IL-33 seviyeleri belirlenmiştir (Resim 3).



Resim 3. ELISA analizörü (*GRIFOLS* marka *TRITURUS* cihazı)

3.4. Kan Örneklerinde IgE ve Ova sIgE Analizi

Kontrol Grubu (n=7), allerjik rinit grubu (n=7), kortikosteroid + allerjik rinit grubu (n=7) olmak üzere derin anestezisi altındaki hayvanlardan **intrakardiak** girişimle kan örneklerinde çalışılmıştır. Örnekler çift çalışılacak şekilde SunRed Bio Rat (IgE) ve SunRed Bio Rat (Ova sIgE) ;ELISA Kiti (Sunred Biological Technology, China) ile üretici önerilerine

uyularak Triturus (Grifols-United Kingdom) otomatik ELISA analizörü kullanılarak IgE ve Ova-sIgE seviyeleri belirlenmiştir.

3.5. PBS (*Phosphate Buffered Saline*)'in Hazırlanması

Bu çalışmada elde edilen sıçan (rat) dokularının homojenizasyonda kullanılmak üzere tampon çözelti olarak PBS hazırlanmıştır.

Bunun için $n (mol) = \frac{m (kütle) g}{mA (moleküler ağırlık) g/mol}$ formülü kullanılarak kimyasalların

0,01 molünde kaç gram NaH₂PO₄ (*Disodyum fosfat*) , KH₂PO₄ (*Potasyum dihidrojen fosfat*) ve NaCl (*Sodyum klorür*) çözeltiye eklenmesi hesaplandı. (NaH₂PO₄'in moleküler ağırlığı =1,7799 g/mol; NaCl 'nin moleküler ağırlığı= 58,44 g/mol; KH₂PO₄'ün moleküler ağırlığı= 136, 09 g/mol).

Hesaplamalar sonucu göre NaH₂PO₄=1,79 gram, NaCl = 0,59 gram, KH₂PO₄ = 1,37 gram olarak bulundu. Bulunan bu değerler 1 litre dH₂O çözüldü. Hazırlanan PBS otoklav da steril edildi.

3.6. IgE, OVA sIgE, IL-21 ve IL-33'ün Analizi İçin ELISA Test Prosedürleri

ELISA yöntemiyle sıçan serumu ve doku örneklerinde IL-21, IL-33, IgE ve Ova sIgE analiz basamakları aynı olup aşağıda IL-33 örnek olarak verilmiştir. Kitlere ait tüm malzemeler oda sıcaklığına getirildi.

1. Standartların oluşturulması için orijinal standart reaktifleri distile suyla üretici önerisine göre sulandırıldı (Tablo 3)
2. İki kuyucuk Streptavidin-HRP, biotin ile işaretlenmiş IL-33antikoru ve numuneler eklenmeyip boş bırakıldı. Talimatlara göre boş kuyucuklara sadece kromojen A ve B ve stop solüsyon eklendi, diğer işlemler ise aynıdır.
3. İki kuyucuğa standart 5, iki kuyucuğa standart 4, iki kuyucuğa standart 3, iki kuyucuğa standart 2, iki kuyucuğa standart 1 olmak üzere standartlardan 50 µl ve 50 µl Streptavidin-HRP eklendi
4. Kalan kuyucuklara her bir örnekten iki kuyucuk olmak üzere 40 µl örneklerden eklenmiş olup hem 10 µl IL-33 antikoru hem de 50 µl Streptavidin-HRP'den eklendi.

5. Kuyucukların üstü yapışkan kapatıcı ile kapatıldı.
6. Bir saat 37 °C da hafifçe sallanarak Triturus- Grifols cihazında inkübe edildi.
7. İnkübasyondan sonra ELISA plaklarındaki yapışkan kapatıcı açıldı ve otomatik pipet yardımıyla plaktaki sıvılar boşaltılıp plak ters çevrilip kurutma kağıdıyla kurutuldu.
8. Daha sonra 350 µl yıkama solüsyonu eklenerek 1-2 dakika bekletildi. Bu işlem 5 defa tekrarlandı.
9. Her kuyucuğa 50 µl Kromojen-A ve 50 µl Kromojen B solüsyonları eklendi.
10. 10 dakika 37°C da hafifçe sallanarak Triturus- Grifols cihazında inkübe edildi.
11. Her kuyucuğa 50 µl Stop Solüsyonu eklendi.
12. Kontrol ve örnekler 15 dakika içinde, spektrofotometre ile 450 nm' de ölçüm yapıldı.

Tablo 3. Standart reaktiflerin dilüsyonu

STANDARTLAR	DİLÜSYON	IL-21	IL-33	IGE	sIgE
Standart no 5	120µl orijinal standart+ 120 µl standart diluent	160 ng/ml	240 ng/ml	8KU/L	1200ng/ml
Standart no 4	120 µl standart diluent no 5+ 120 µl standart diluent	80 ng/ml	120 ng/ml	4KU/L	600 ng/ml
Standart no 3	120 µl standart no 4 +120 µl standart diluent	40 ng/ml	60 ng/ml	2KU/L	300 ng/ml
Standart no 2	120 µl standart no3+120 µl standart diluent	20 ng/ml	30 ng/ml	1KU/L	150 ng/ml
Standart no 1	120 µl standart no 2 + 120 µl standart diluent	10 ng/ml	15 ng/ml	0.5KU/L	75 ng/ml

3.7. İstatistiksel Analizler

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS (IBM SPSS Statistics Version 22) hazır paket programı kullanılarak yapıldı. İki ya da daha fazla bağımsız grubun ortalamalarını karşılaştırmak için tek yönlü varyans analizi yapılarak önem testi yapıldı. Bu analizler için *Student T Testi* ve *Mann Whitney U Testleri* uygulanmıştır.

Çalışma sonucunda elde edilen bulgular istatistiksel yöntemlerle karşılaştırılarak sonuca varılmıştır. Sıçan sayısı, deney sırasında hayvan kayıpları ve istatistiksel anlamlılık dikkate alınarak hesaplanmıştır. Ayrıca www.elysaanalysis.com adresinden de bulguların değerlendirilmesinde analizlerden faydalanılmıştır.



4. BULGULAR

Allerjik rinit sıçan modeliyle IL-21, IL-33 doku ve serum, IgE ve Ova sIgE serum seviyelerinin araştırıldığı bu çalışmada kontrol grubu (n=7), allerjik rinit grubu (n=7), kortikosteroid + allerjik rinit grubu (n=7) olmak üzere toplam 21 sıçan doku ve serumu ELISA yöntemiyle antikor seviyeleri belirlendi.

Oluşturulan bu sıçan modellerinden alınan doku ve serum örnekleri çift kuyucuk olarak çalışıldı ve OD (optik dansite) değerleri bulundu (Tablo 4). Ayrıca konsantrasyonları hesaplandı (Tablo 5). Aynı örnek için kuyucuklar arasında %30 fark sapma olan örneklerden genel sonuçlarla uyumsuz olanlar çalışma dışı bırakıldı.

Tablo 4: Allerjik rinit sıçan modelinde IL-33, IL-21, Ova sIgE, IgE 'nin doku ve serum örneklerinde ve standartlarının optik dansite değerleri

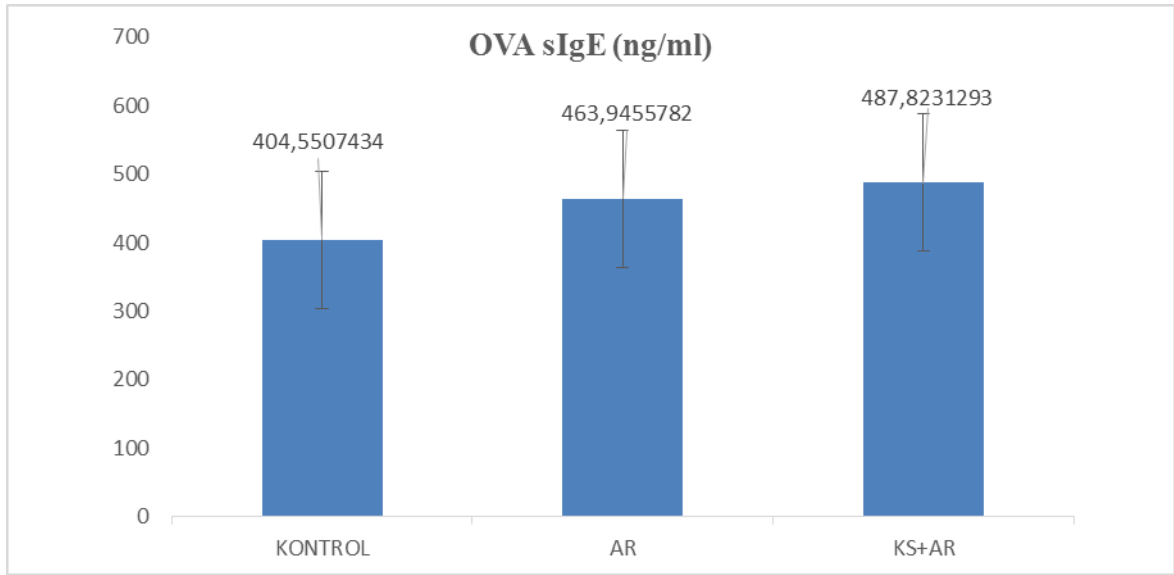
Gruplar	IL-33 Doku OD Ortalaması	IL-33 Serum OD Ortalaması	IL-21 Doku OD Ortalaması	IL-21 Serum OD Ortalaması	IgE OD Ortalaması	sIgE OD Ortalaması
Standart 1	0,551	0,551	0,383	0,383	0,7845	0,534
Standart 2	0,8465	0,8465	0,5855	0,5855	1,365	1,1675
Standart 3	1,4235	1,4235	1,279	1,279	2,1455	1,566
Standart 4	2,3465	2,3465	2,0155	2,0155	2,9185	2,269
Standart 5	3,238	3,238	2,576	2,576	3,451	3,0945
Kontrol 1	1,009	1,638	1,61	1,4545	2,473	1,5705
Kontrol 2	1,187	1,796	1,683	1,295	2,2	2,1255
Kontrol 3	1,121	1,3185	1,404	1,051	2,1485	1,737
Kontrol 4	0,9695	DIŞLANDI	1,393	1,275	2,331	1,498
Kontrol 5	1,541	2,239	1,943	1,2825	2,498	1,7215
Kontrol 6	1,676	1,794	2,0595	1,129	2,049	1,201
Kontrol 7	0,9545	1,371	0,9405	1,456	2,4225	2,1225
AR 1	2,177	1,5715	2,4785	1,1525	2,187	1,495
AR 2	1,555	1,703	1,937	1,21	1,996	1,63
AR 3	1,826	2,234	1,1255	1,0635	2,1475	1,889
AR 4	2,029	1,814	1,754	1,0695	2,0915	1,877
AR 5	1,877	1,98	1,9165	1,198	1,4525	1,9945
AR 6	1,606	1,9425	2,387	1,25	1,7725	1,635
AR 7	1,002	1,9195	1,998	1,055	1,903	1,5915
KS+ AR 1	1,623	1,31	1,607	1,105	2,1435	2,1515
KS+AR 2	1,18	1,032	1,398	1,33	1,9925	1,674
KS+AR 3	1,85	1,971	2,109	1,159	2,2	1,6915
KS+AR 4	1,4895	2,05	1,6155	0,943	2,134	1,971
KS+AR 5	1,7375	1,3905	1,7	0,756	1,9645	1,8695
KS+AR 6	1,637	0,975	1,4425	1,421	1,793	1,5755
KS+AR 7	1,55	0,899	1,637	1,091	1,6475	1,53

Allerjik rinit sıçan modelinde yapılan analizler kendi aralarında istatistiksel olarak *Student T Testi* ve *Mann Whitney U Testleri* kullanılarak değerlendirilmiş ve $p < 0,05$ olan değerler anlamlı kabul edilmiştir.

Tablo 5. Allerjik rinit sıçan modeli çalışma gruplarının konsantrasyon değerleri

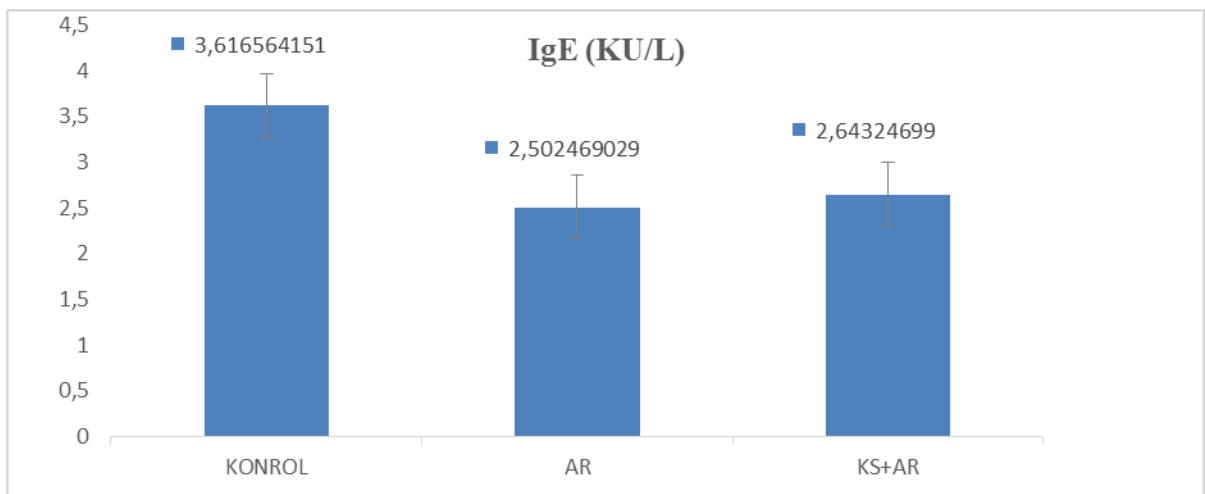
Gruplar	IL-33 Doku Konsantrasyon Ortalaması	IL-33 Serum Konsantrasyon Ortalaması	IL-21 Doku Konsantrasyon Ortalaması	IL-21 Serum Konsantrasyon Ortalaması	IgE Konsantrasyon Ortalaması	sIgE Konsantrasyon Ortalaması
Kontrol 1	35,66666667	88,08333333	78,79310345	68,06896552	4,131594906	387,8571429
Kontrol 2	50,5	101,25	83,82758621	57,06896552	3,303820497	652,1428571
Kontrol 3	45	61,45833333	64,5862069	40,24137931	3,147665252	467,1428571
Kontrol 4	32,375	DIŞLANDI	63,82758621	55,68965517	3,701030928	353,3333333
Kontrol 5	80	138,1666667	101,7586207	56,20689655	4,207398423	459,7619048
Kontrol 6	91,25	101,0833333	109,7931034	45,62068966	2,845967253	211,9047619
Kontrol 7	31,125	65,83333333	32,62068966	68,17241379	3,978471801	650,7142857
AR 1	133	82,54166667	138,6896552	47,24137931	3,264402668	351,9047619
AR 2	81,1667	93,5	101,3448276	51,20689655	2,685263796	416,1904762
AR 3	52,1667	137,75	45,37931034	41,10344828	3,144633111	539,5238095
AR 4	103,75	102,75	88,72413793	41,51724138	2,974833232	533,8095238
AR 5	108	116,5833333	99,93103448	50,37931034	1,037295331	589,7619048
AR 6	85,4167	113,4583	132,3793103	53,96551724	2,007580352	418,5714286
AR 7	35,0833	111,5416667	105,5517241	40,51724138	2,403274712	397,8571429
KS+AR 1	86,8333	60,75	78,5862069	43,96551724	3,132504548	664,5238095
KS+AR 2	49,9167	37,58333333	64,17241379	59,48275862	2,674651304	437,1428571
KS+AR 3	105,75	115,8333333	113,2068966	47,68965517	3,303820497	445,4761905
KS+AR 4	75,7083	122,4166667	79,17241379	32,79310345	3,103699212	578,5714286
KS+AR 5	96,375	67,45833333	85	19,89655172	2,589751364	530,2380952
KS+AR 6	88	32,83333333	82,10344828	66,44137931	2,069739236	390,2380952
KS+AR 7	80,75	26,5	80,65517241	43	1,628562765	368,5714286

Allerjik rinit sıçan modelinde OVA sIgE 'nin serumdaki seviyesi allerjik rinitli grup ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.949$). Ayrıca bu grup ile kortikosteroid+allerjik rinit grup arasında da istatistiksel bir fark bulunmamıştır ($p=0.749$). Diğer taraftan kortikosteroid+ allerjik rinit grubu ile kontrol grubu ($p=0.655$) arasında da anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 12.)



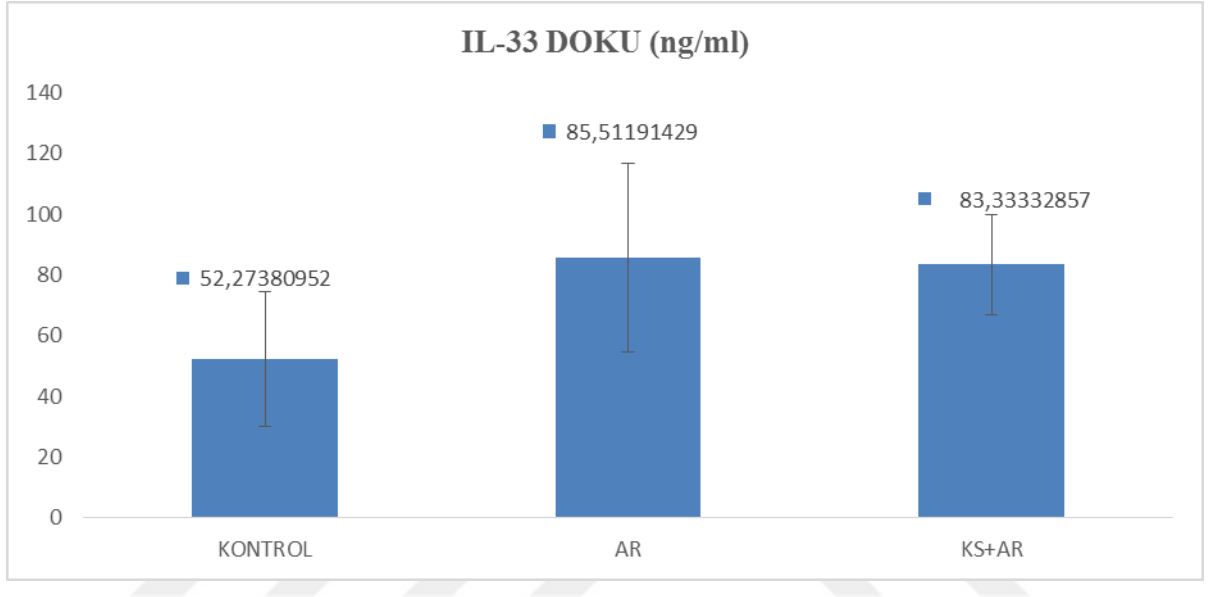
Şekil 13. Allerjik rinit fare modelinde serumda OVA sIgE düzeyi (Kontrol: Kontrol grubu, AR: Allerjik rinit grubu, KS+AR: Kortikosteroid+ Allerjik rinitli grup)

Allerjik rinit sıçan modelinde de serumdaki total IgE seviyelerine incelendiğinde allerjik rinit grubu ve kortikosteroid+ allerjik rinit grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmuştur (sırasıyla $p=0.009$, $p= 0.011$). Kontrol grubundaki total IgE seviyesi hem allerjik rinit hem de kortikosteroid+ allerjik grubuna göre daha yüksek seviyede bulunmuştur. Allerjik rinit sıçan modelinde allerjik rinit ve kortikosteroid+ allerjik rinit gruplarında IgE seviyeleri değerlendirildiğinde anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ($p=0.848$) (Şekil 13.).



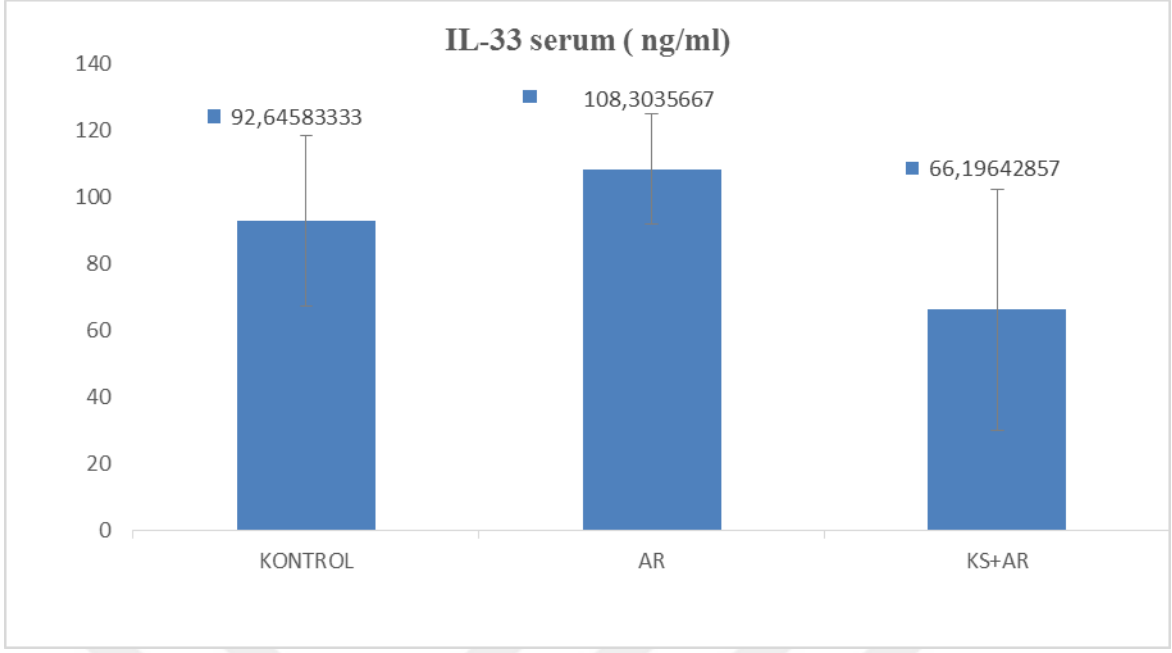
Şekil 14. Allerjik rinit sıçan modelinde serumda IgE düzeyleri (Kontrol: Kontrol grubu, AR: Allerjik rinit grubu, KS+AR: Kortikosteroid+ Allerjik rinitli grup)

Allerjik rinit sıçan modelinde IL-33'ün dokudaki düzeyleri incelendiğinde; allerjik rinit grubundaki IL-33 değeri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde yüksek bulunmuştur ($p=0.048$). Allerjik rinit grubu ile kortikosteroid+allerjik rinit istatistiksel fark bulunmamıştır ($p=0.749$). Diğer taraftan kortikosteroid+ allerjik rinit grubunda dokuda IL-33 değeri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p=0.035$) (Şekil 14).



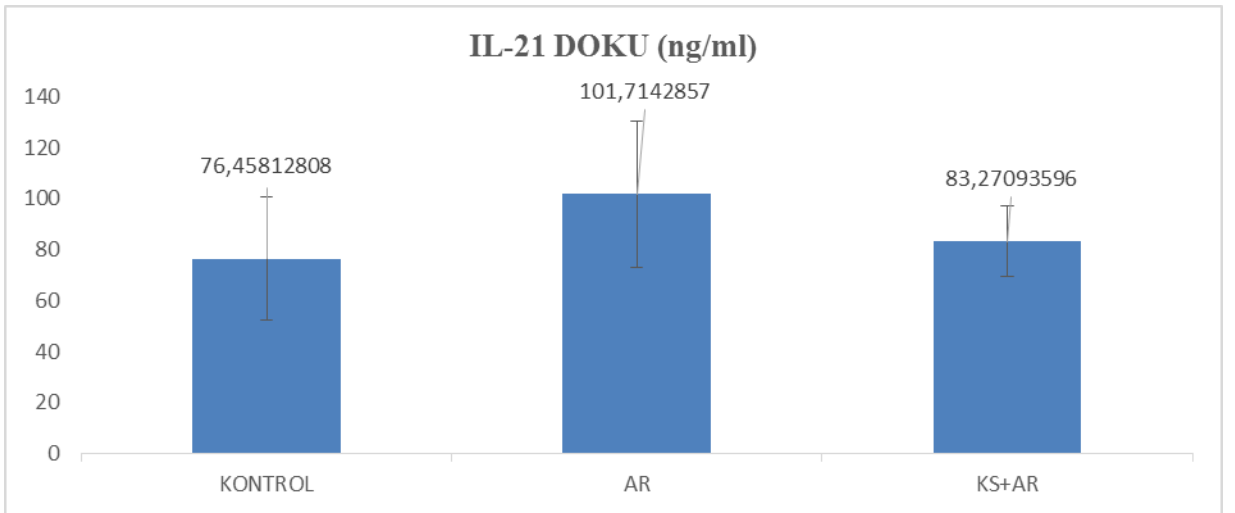
Şekil 15 Allerjik rinit fare modelinde dokularda ki IL-33 düzeyi (Kontrol: Kontrol grubu, AR: Allerjik rinit grubu, KS+AR: Kortikosteroid+ Allerjik rinitli grup)

Allerjik rinit sıçan modelinde IL-33'ün serumdaki seviyesi allerjik rinitli grup ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.199$). Ayrıca bu grup ile kortikosteroid+allerjik rinit grup arasında da istatistiksel bir fark bulunmamıştır ($p=0.085$) . Diğer taraftan kortikosteroid+ allerjik rinit grubu ile kontrol grubu ($p= 0.199$) arasında da anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 15.).



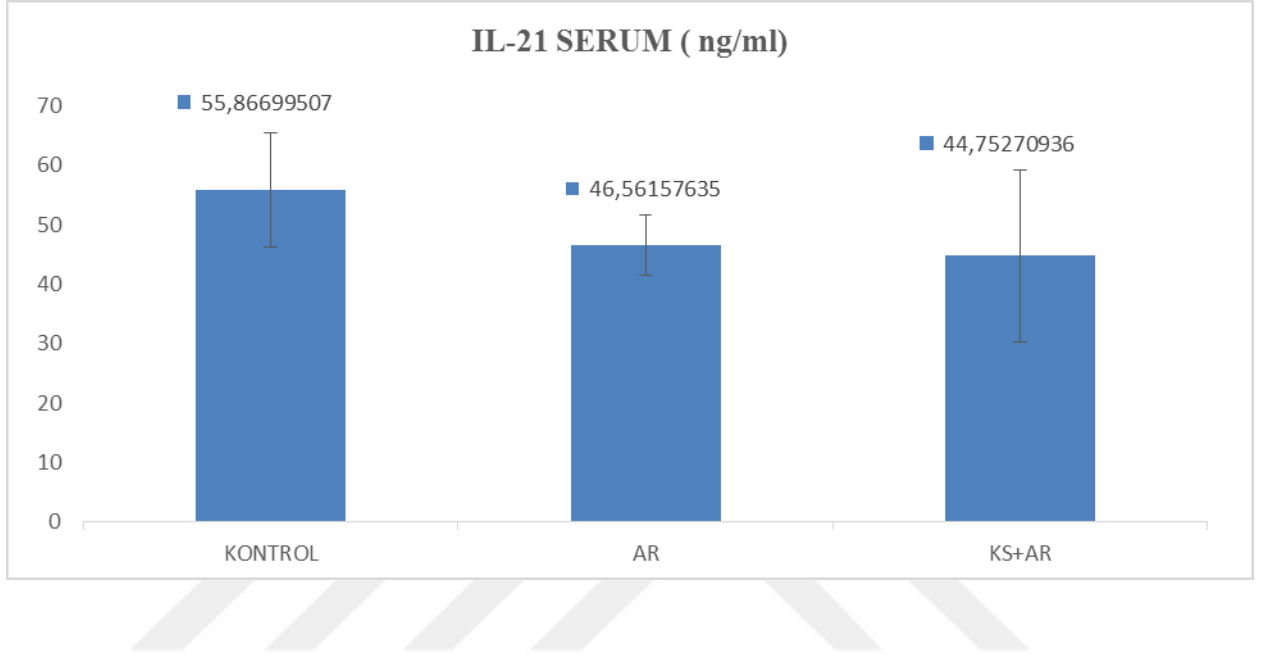
Şekil 16. Allerjik rinit fare modelinde serumda IL-33 düzeyi (Kontrol: Kontrol grubu, AR: Allerjik rinit grubu, KS+AR: Kortikosteroid+ Allerjik rinitli grup)

Allerjik rinit sıçan modelinde IL-21'in dokudaki seviyesi allerjik rinitli grup ve kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.142$). Ayrıca bu grup ile kortikosteroid+allerjik rinit grup arasında da istatistiksel bir fark bulunmamıştır ($p=0.085$). Diğer taraftan kortikosteroid+ allerjik rinit grubu ile kontrol grubu ($p=0.565$) arasında da anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 16.).



Şekil 17. Allerjik rinit fare modelinde dokuda IL-21 düzeyi (Kontrol: Kontrol grubu, AR: Allerjik rinit grubu, KS+AR: Kortikosteroid+ Allerjik rinitli grup)

İnterlökin-21 kontrol grubu ve allerjik rinitli grupların serumdaki seviyelerinde anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p= 0.085$). IL-21 kortikosteroid + allerjik rinit grubu ve allerjik rinitli grubunun serumdaki seviyelerinde anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p=0.949$). IL-21 kontrol grubu ve kortikosteroid + allerjik rinitli grupların serumdaki seviyelerinde anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p=0.180$) (Şekil 17.).



Şekil 18. Allerjik rinit fare modelinde serumda IL-21 düzeyi (Kontrol: Kontrol grubu, AR: Allerjik rinit grubu, KS+AR: Kortikosteroid+ Allerjik rinitli grup)

5. TARTIŞMA

Allerjik rinit toplumda en sık karşılaşılan hastalıklardan biridir. Hastalığın ölümcül olmaması nedeniyle sık rastlanmasına rağmen hastalar tarafından çok önemsenmemektedir. Ancak bu durum hastanın hayat kalitesini kötü yönde etkiler ve dolaylı olarak tedavi giderleri, işgücü ve okul günü kayıplarıyla birleşince sosyoekonomik sorunlar oluşturmaktadır (Yaz, 2008; Bozoğlu, 2011).

Bu çalışma “*Allerjik Rinit Deneysel Hayvan modelinde Thymoquinon’un etkisi*” nin araştırıldığı allerjik rinit sıçan (rat) modelinde kullanılan sıçanlardan alınan doku ve serum örnekleri ile yapılmıştır. İlgili çalışmada *Thymoquinon* tedavisi ile karşılaştırmak için kullanılan allerjik rinit grubu, kortikosteroid+ allerjik rinit grubu ve kontrol grubudur. Bu çalışmaya alınan örnekler *Thymoquinon* ile ilgili herhangi bir uygulama bulunmayan diğer grup örnekleridir. Allerjik rinit oluşturabilmesi için 3 hafta boyunca her gün intranazal olarak ratlara ovalbümin verilmiştir. Ancak adjuvan olarak AlHO₃ de her uygulamada ovalbümine eklenmiştir. Kortikosteroidin allerjik rinit patogenezinde etkisinin araştırıldığı grupta ise her uygulamada intraperitoneal olarak ayrıca kortikosteroid uygulanmıştır. Ayrıca bu ratlara oküler ve intraperitoneal olarak da ovalbümin uygulanmıştır. Kontrol grubuna ise ovalbümin yerine serum fizyolojik uygulanmıştır. Bu yöntem allerjik rinit modelinde genellikle uygulanan yöntemlerden biridir (Haenuki ve ark, 2012; Kim ve ark, 2012; Tamagawa-Mineoka ve ark, 2011). Bu çalışmada gruplar 7’şer rat olacak şekilde planlanmıştır bu sayılar hayvan deneyleri için genellikle kabul edilebilen sayılardır.

Allerjik rinit patogenezinde bir allerjenin alınmasından sonra nazal mukoza ve diğer solunum sistemi mukozalarının plazma hücrelerinde IgE sentezlenir. Sentezlenen IgE antikorları Fc reseptörü ile dokudaki mast hücreleri ve dolaşımdaki bazofillere bağlanır. Allerjen ile tekrar alındığında bazofil ve mast hücrelerinin yüzeyindeki spesifik IgE antikorları ile bağlanmaktadır. Bu etkileşim ile histamin, bazı enzimler, anafilaksin eozinofil kemotaktik faktörü gibi mediyatörler mast hücreleri ve bazofiller tarafından salınır. Bu mediyatörlerin bir kısmı da prostaglandinler, lökotrienler, trombosit aktive eden faktör gibi hücre yüzeyinde allerjen ile IgE etkileşimi olduktan sonra sentezlenmeye başlamaktadır. Salınan mediyatörlerin etkisiyle inflamasyon başlatılır, damar permeabilitesi artar, mukozada ödem ve burun tıkanıklığı gelişir. Allerjik rinit gelişiminde bu mediyatörlerden başka rol alan sitokinlerde bulunmaktadır (Akkuş, 2007; Guo-Zhu ve ark, 2014). Bu çalışmada allerjik rinit

sıçan (rat) modeli oluşturularak patogenezi etkileyen faktörlerden IgE, Ova sIgE, IL-33 ve IL-21'in araştırılması amaçlanmıştır.

Allerjik rinit patogenezi nazal eozinofilik ve Th2-hücreleri infiltrasyonu ile sonuçlanan ve IgE'nin rolünün olduğu bir hastalık olarak kabul edilmektedir. İmmünglobulin E (IgE) birçok allerjik hastalığın da patogenezi merkezi rol oynar. Atopik bireylerde IgE antikoru yüksek seviyelerde üretilir ve mast ile bazofil hücrelerinin üzerinde bulunan yüksek afiniteli FcεR reseptörüne bağlanır. Bu çalışmada allerjik rinit sıçan modelinde de serum IgE seviyeleri allerjik rinit grubu ve kortikosteroid+ allerjik grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmuştur (sırasıyla $p=0.009$, $p=0.011$). Ancak kontrol grubundaki total IgE seviyesi hem allerjik rinit hem de kortikosteroid+ allerjik grubuna göre daha yüksek seviyede bulunmuştur. Kontrol grubunda serum total IgE'nin yüksek olmasını açıklayacak bir neden bilinmemektedir. Diğer taraftan ovalbümine spesifik IgE değerleri incelendiğinde kontrol grubunda allerjik rinit ve kortikosteroid+ allerjik rinit grubuna göre daha düşük miktarlarda bulunmuştur. Her bir grubun total IgE içerisindeki ovalbümine spesifik IgE oranı değerlendirildiğinde kontrol grubunun diğer gruplara göre daha düşük oranda spesifik IgE'nin olduğu anlaşılmaktadır. Allerjik rinit ve kortikosteroid+allerjik rinit grubunun kontrol grubuna göre daha düşük total IgE olmasına rağmen daha yüksek ovalbümine spesifik IgE oluşturması allerjik rinit patogenezi spesifik IgE'nin rol aldığını düşündürmektedir.

IgE üretimi hem allerjik hem de allerjik olmayan kişilerde IL-4 ile kombine olan CD40L ile uyarılabilir (Jen ve ark,2014). Bu duruma bağlı olarak uyarımdan sonra allerjik rinitli hastalarda IgE antikor seviyesinin daha yüksek olması beklenmektedir. Haenuki ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada (2012); yakupotu (*Ambrosia sp.*) ve PBS-verilmiş fareler 1 gün sonra karşılaştırıldığında, yakupotu verilen fareler önemli ölçüde serum total ve yakupotuna spesifik IgE düzeylerinde artış gösterilmiştir ($p<0,005$). Yapılan çalışmalar allerjene özgü IgE antikor düzeyinde allerjik riniti olan hastaların serum kontrollere göre daha anlamlı olarak yüksek düzeylerde bulunmuştur (Kamekura ve ark, 2012). Yaptığımız çalışmada da benzer olarak ovalbümine spesifik IgE ile oluşturulan allerjik rinit grubunda spesifik IgE'ler kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur.

IL-33 ise patojenik tehditlere karşı ilk savunma hattı olan epitel hücrelerinde oluşturulur ve çeşitli hücreleri aktive etmektedir. Mast hücreleri aracılığıyla proinflamatuvar sitokin ve kemokinler için güçlü bir aktivasyon faktörüdür. IL-33 ile ST2'nin uyarılması sonucunda NF-κB ve MAPK sinyal yollarının aktivasyonuna neden olmaktadır. Ayrıca IL-33'ün eozinofil, mast ve bazofil hücrelerinin üzerinde ki etkisi de bulunmaktadır.

Yaptığımız bu çalışmada IL-33'ün dokuda hem allerjik rinit ($p=0.048$) hem de kortikosteroid+ allerjik rinit ($p=0.035$) grupları ile kontrol grubundaki seviyelerine değerlendirildiğinde anlamlı bir fark bulunmuştur. Bu fark IL-33'ün allerjik rinit patogenezinde rolünün olduğunu düşündürmektedir. IL-33'ün lenfoid dokuların çekirdeklerinde, fibroblastik hücreler ve deri keratinositlerinde, bağırsak epitel hücreleri, tonsil kript ve salgı bezlerinde oluşturduğu etkilerini hücresel boyutta araştıran çalışmalar bulunmaktadır. IL-33 bu gibi hücrelerde hem eksprese edilirken ayrıca bu hücreleri aktive edebilmektedir (Schmitz ve ark, 2005; Lloyd 2010; Oboki ve ark 2010). İnsan ve fare cDNA ve kantitatif PCR analizlerinin incelenmesiyle, IL-33'ün yapısal olarak bronş epitel hücreleri ve küçük hava yollarında da eksprese edildiği gösterilmiştir (Schmitz ve ark, 2005; Lloyd, 2010). IL-33 ekspresyonu ağır astımlı hastalarda *PCR*, *ELISA* ve *Western-blot* metoduyla hava yolu düz kas hücrelerinde (ASMC) tespit edilmiştir (Lloyd, 2010). IL-33'ün allerjik rinit patogenezinde rolü burun içine uygulanan IL-33 ile T ve B hücrelerinin yokluğunda allerjik patolojiye neden olmasıyla gösterilmiştir (Kondo ve ark, 2008). Benzer olarak başka bir astım fare modeli çalışmasında eksojen IL-33 kaynaklı hava yolu inflamasyonu glukokortikoid ile dirençli bir sistemik tedavi olduğunu ortaya koymuştur (Kabata ve ark, 2013).

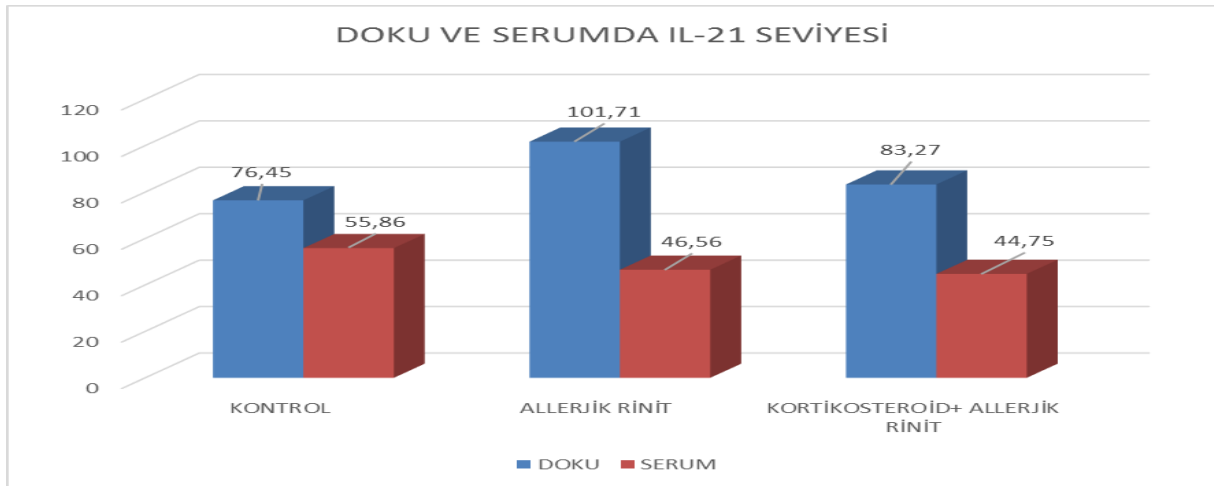
İnterlökin-33'ün doku seviyeleri allerjik rinit ve kortikosteroid+allerjik rinit grubu kontrol grubuna göre anlamlı bulunurken, serum seviyelerinde ise kontrol grubu ve diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p=0.199$). Ancak allerjik rinit grubu, kontrol grubu ve diğer gruba göre daha yüksek değerlerde bulunmuştur. Dokudaki değerlerinin serum seviyelerine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulunması IL-33'ün dokuda allerjiden dolayı epitel hasarını takiben salgılanan Th2 sitokin aracılı eozinofil yanıtında rol oynadığının bir göstergesi olduğunu düşündürmektedir. Sakashita ve arkadaşları (2008) ayrıca Glück ve arkadaşları (2012) yaptıkları çalışmalarda benzer olarak ağaç ve/veya çimen polenlerine karşı duyarlı allerjik rinitli hastaların serumlarında IL-33 düzeylerinin yüksek seviyede bulduklarını bildirmişlerdir.

Bu çalışmada kortikosteroidin allerjik rinit de IL-33 üzerine etkisi incelendiğinde allerjik rinit ve kortikosteroid+allerjik rinitli grupların doku ve serum IL-33 seviyeleri arasında istatistiksel olarak herhangi bir anlamlı fark bulunmamıştır (sırasıyla; $p=0.749$, $p=0.085$). Ancak kortikosteroidi nazal uygulamak IL-33 aracılı bağışıklık reaksiyonunda kısmen de olsa rol oynadığı bildirilmektedir (Préfontaine ve ark, 2009). Yaptığımız çalışmada IL-33'ün serum seviyeleri doku ile karşılaştırıldığında bir paradoks olarak IL-33 hem allerjik rinit grubundan hem de kontrol grubundan daha düşük olarak bulunmuştur. Bu durumun kortikosteroid uygulamasının sistemik olarak IL-33'ün oluşumunu inhibe edebildiği ancak

lokal olarak allerjenle uyarılan rinit patogenezinin inhibitör etkisinin olmadığını düşündürmektedir.

Haenuki ve arkadaşlarının oluşturduğu allerjik rinitli fare modelinde IL-33'ün allerjik belirtilerdeki rolünü ve IgE aracılı bağışıklık tepkisine önemli bir bakış açısı kazandırmıştır (Haenuki ve ark, 2012). IL-4 Th2 hücre farklılaşması, IgE sentezi ve seviyesinin artması için IgE için reseptörlerin ve mukus salgılanmasını teşvik etmektedir. IL-5 eozinofilik inflamasyonu ve havayolu infiltrasyonu arttırmaktadır. IL-13, B hücreleri ve IgE izotip değişimi farklılaşmasını indüklemektedir. Bu eylemlerin önlenmesi sayesinde, anti-IL-33 antikoru, allerjik iltihaplanma ve allerjik rinit üzerinde tedavi edici etkiler yaratmaktadır. Liu ve arkadaşlarının (2009) yaptıkları çalışmada da anti-IL-33 antikorları, eozinofil, Th2 sitokin üretimi, serum IgE ve mukus üretimini iyileştirildiği bildirilmiştir.

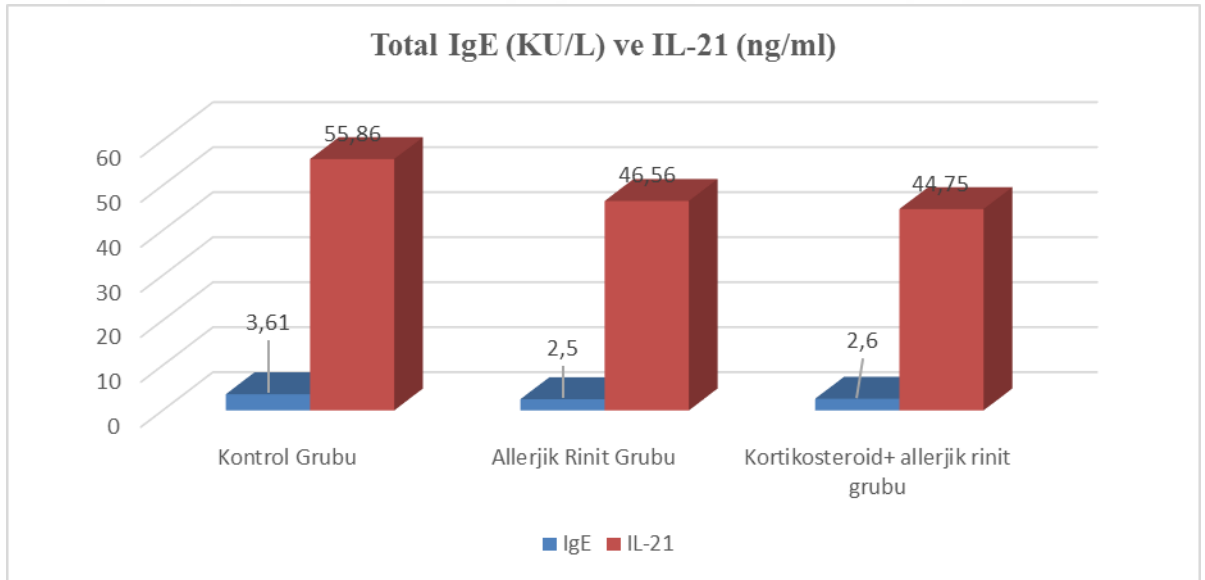
IL-33'ün alerji patogenezinde rol almasının gösterilmesi tedavide anti-IL-33'ün yerinin araştırılmasına neden olmuştur. Kim ve arkadaşları (2012) allerjik rinit modelinde anti-IL-33 uygulamasıyla burun kaşıntısının azaldığını ve serumda *total* IgE ve Ova'ya özgü IgE anlamlı derece de azalmış olduğunu bildirmişlerdir. Araştırmacılar IgE' deki azalmanın anti-IL-33'ün B hücresi aktivasyonu üzerinde inhibe edici etkilerine bağlı olabileceğini ve Th2 sitokinlerin salınmasını azalttığını düşünmektedirler. Aynı zamanda BAL sıvısında bulunan eozinofil sayısı önemli ölçüde azalmış olduğu gösterilmiştir. Böylece anti-IL-33'ün deneysel allerjik rinit üzerinde terapötik etkiye sahip olduğu sonucuna varılmıştır (Kim ve ark, 2012).



Şekil 19. IL-21'in doku ve serumdaki seviyeleri

Bu çalışmada IL-21 seviyeleri değerlendirildiğinde hem doku hem de serumda gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ancak burun dokusu örneklerinde IL-21 değerleri allerjik rinitli grupta en yüksek olup, kontrol grubunda ise en düşük olmuştur.

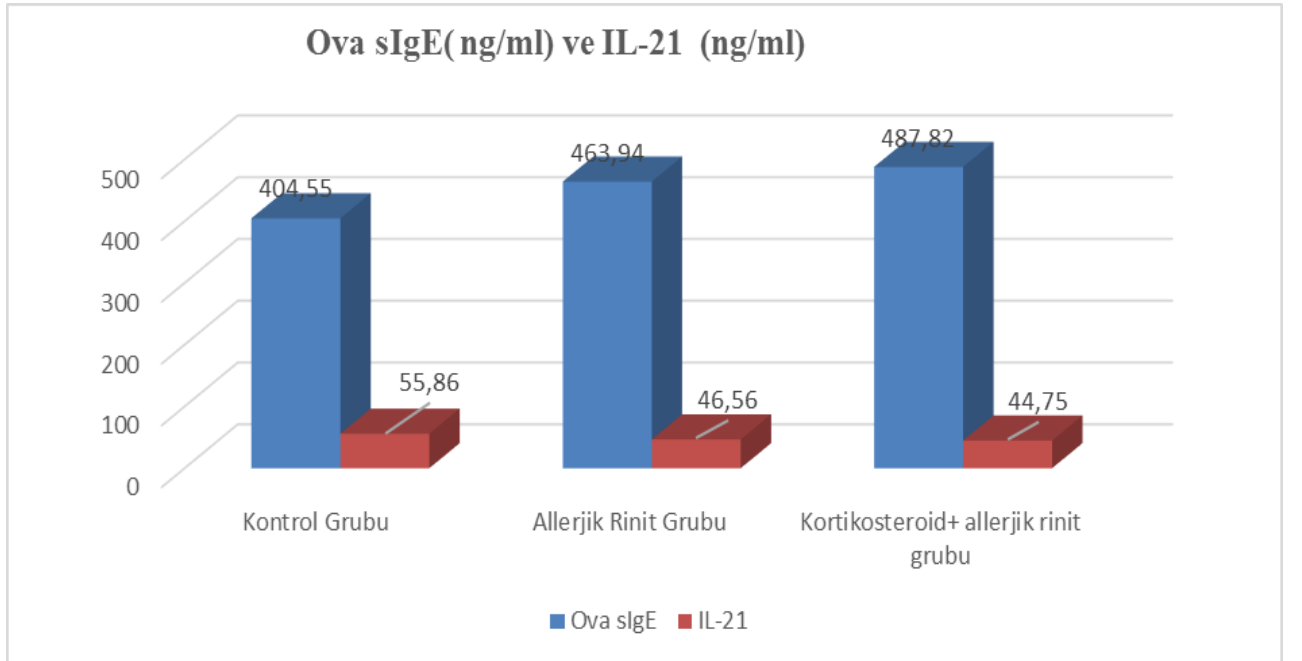
Serum ve dokuda gruplar arasında IL-21 seviyelerine bakıldığında; allerjik rinitli grubun dokudaki IL-21'in seviyesi, serum allerjik rinit grubunun IL-21 seviyesine göre daha anlamlı bulunmuştur ($p= 0,009$). Ovalbümin allerjini verilen grupta IL-21 değerin kontrol grubuna göre daha yüksek olması allerjik rinit patogenezinde rol aldığını düşündürmektedir. Buna karşın IL-21 serum seviyeleri kontrol grubunda daha yüksek bulunurken allerjik rinit ve kortikosteroid+ allerjik grupta daha düşük değerlerde bulunmuştur. IL-21'in doku ve serum seviyeleri arasında bir paradoks söz konusudur. Bu paradoksun neye bağlı olduğu bilinmemektedir. Ancak IL-21 seviyesinin nazal dokuda daha yüksek miktarda olması inflamasyonun olduğu bölgede daha iyi eksprese edildiğini ve allerjik rinit ile korelasyonu olduğu düşünülmektedir.



Şekil 20. Total IgE ve IL-21'in serum seviyeleri

İnterlökin-21, Ig üreten B hücrelerinin çoğalması, farklılaşmasında ve hayatta kalmasında önemli bir rol oynar. IL-21, B ve Th2 hücrelerinin fonksiyonları üzerinde inhibitör etkileri de bulunmaktadır (Hiromura ve ark,2007; Lin ve ark,2014). Allerjik rinitte LPS (lipopolisakkarit) veya CpG DNA (sitozin-fosfat-guanin bölgesi) tarafından uyarılan B hücresi proliferasyonu, IL-21 tarafından inhibe edilebilir olsada IL-21; potansiyel olarak, CD40 ya da B hücre reseptörüne (BCR) bağlanmasından sonra B hücrelerinin çoğalmasını kolaylaştırdığı bildirilmiştir (Hiromura ve ark; 2007). Ancak IL-21, B hücresi fonksiyonu üzerindeki etkileriyle IgE üretimi için güçlü bir baskılayıcı olarak da etkiler. Yaptığımız çalışmada IgE ile IL-21'in serum seviyeleri arasındaki korelasyon incelendiğinde kontrol

grubundaki serum IL-21 seviyesi ve IgE seviyeleri benzer olarak diğer gruplara oranla daha yüksek değerlerde bulunmuştur. Pene ve arkadaşları (2006) pürifiye edilmiş insan periferik kanında ve dalak B hücrelerinde IL-21R genotip-bağımlı bir şekilde IFN α indüksiyonu yoluyla IgE üretimini aşağı regüle ettiğini bildirmişlerdir. Diğer taraftan yaptığımız çalışmada serum IL-21 ile ovalbümine spesifik IgE arasındaki korelasyon incelendiğinde; kontrol grubunun IL-21 serum seviyesi diğer gruplar ile karşılaştırıldığında yüksek çıkarken, OVA'ya spesifik IgE antikor seviyesinde bu durum tam tersidir (Şekil 20). Allerjik rinit modellerinde IL-21 ile IgE arasındaki ilişkinin incelendiğinde çalışmamıza benzer sonuçlar bildiren çalışmalar bulunmaktadır. Hiromura ve arkadaşlarının (2007) allerjik rinitli fare modellerinde total IgE serum seviyelerinde anlamlı bir farklılık olmamıştır ancak OVA albümine spesifik IgE seviyesi azalmıştır. Kishida ve arkadaşlarının fıstık alerjisine göre oluşturdukları fare modelinde de *Total* IgE ile IL-21 serum düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığını bildirmesi bu durumu desteklemektedir (Kishida ve ark, 2007). Benzer şekilde allerjik rinitli hastalarda yapılan bir çalışmada ise sağlıklı kontroller arasında ve IL-21 serum spesifik IgE ile ilişkili olmadığını serum IL-21 düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmadığını belirtmiştir (Huang ve ark, 2011). Allerjik rinitte IL-21 rolünü araştırmak için daha büyük örneklem ile yapılacak çalışmalarda mRNA düzeyleri araştırılarak sentezin gerçekleştiği gösterilebileceği düşünülmektedir.



Şekil 21. OVA sIgE ve IL-21'in serum seviyeleri

Bu çalışmada IL-21 ve IgE serum seviyeleri gruplar arasındaki ilişkisi incelendiğinde kontrol grubunda IL-21 ve total IgE seviyeleri yüksek bulunurken, allerjik rinit ve kortikosteroid+ allerjik rinit grubunda daha düşük bulunmuştur. Jen ve arkadaşlarının allerjik rinitli hastalarda yaptıkları çalışmada (2014) IL-21'in serum seviyesinde bir farklılık bulunmadığı ancak allerjik hastalıklarda naif ve B hücreleri IL-21R ekspresyonunu artırdığını bildirmişlerdir. Ayrıca IL-21 ile indüklenen veya CD40 ligandı (CD40L) uyarımı ile B hücrelerinden IgE salgılanmasını inhibe ettiği bildirilmiştir (Jen ve ark, 2014). Buna ek olarak IL-21R ve IgE serum düzeyleri ifadesi arasında negatif bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir (Jen ve ark, 2014). Bu bulgular IL-21'in allerjik hastalıklarda IgE sentezini baskılayıcı rol oynayabileceğini düşündürmektedir. İnterlökin-21 in IgE sentezini baskılayıcı etkisi eksojen olarak verilerek de gösterilmiştir. Lin ve arkadaşlarının ovalbümün vererek oluşturdukları allerjik rinit kemirgen modelinde eksojen olarak verilen IL-21'in, allerjik belirtilerini azalttığını ve B hücreleri ile IL-4 ile uyarılan IgE salgılanmasını inhibe ettiğini bildirmişlerdir (Lin ve ark, 2014). Tamagawa-Mineoka ve arkadaşlarının (2011) IgE aracılı kutanöz ani aşırı duyarlılık reaksiyonu (*the immediate hypersensitivity reaction (IHR)*) fare modelinde (rm)IL-21 (rekombinant fare IL-21) uygulanması ile allerjene spesifik IgE üretimini baskıladığı, kutanöz IHR azalttığı bildirmişlerdir. Araştırmacılar duyarlılaştırma sırasında, IL-21 uygulanmasının bifazik allerjik deri reaksiyonlarını azalttığını göstermiş ve geç evrede (rm)IL-21-tedavisi ile allerjik farelerde kontrol grubuna göre lökosit infiltrasyonu anlamlı olarak daha düşük olduğu bildirilmiştir. İnterlökin-21'in fare modellerinde eksojen olarak uygulanmasının antijene spesifik serum IgE ve Th2 sitokinleri azaltarak veya mast hücre aktivasyonunun baskılayarak deride ani aşırı duyarlılık reaksiyonları ve allerjik belirtileri anlamlı olarak azaltmış olduğu bildirilmiştir (Tamagawa -Mineoka ve ark, 2011). IL-21 serum düzeylerinin şiddetli atopik dermatiti olan hastalarda, sağlıklı kontrollere göre azalmış olduğu bildirilmiştir (Lin ve ark, 2011). Bu ve benzeri çalışmaların sonuçlarla atopik bireylerde IL-21'in seviyelerinin düşük olduğu ve eksojen olarak uygulanmasının tedavi edici bir etkisinin olabileceğini düşündürmektedir.

Allerjik rinit modelinde yapılan çalışmalarda tedavide kullanılan birçok maddenin etkisi araştırılmaktadır. Bunlardan biride kortikosteroidler olup bu çalışmada da grupların biri kortikosteroid tedavisi uygulanmıştır. Kortikosteroidler güçlü ama nispeten spesifik olmayan anti-enflamatuar maddelerdir. İntranazal glukokortikoid kullanımı standart tedavi ve allerjik rinit için en etkili olanlardan biri olarak bilinmektedir (Okano, 2009). Fonksiyonel olarak solunum yolu hiperreaktivitesini baskıladığı, ödemi azalttığı, dolaşımdan solunum yoluna inflamatuvar hücre göçünü önlediği bildirilmiştir (Barnes, 1998). Kortikosteroidler alerjide

birçok sitokin ve kemokin transkripsiyonunu önlemektedir (Cengizlier ve Çetinkaya,2002). Kortikosteroidlerin sitokinler üzerindeki inhibitör etkisi, sitokinlerin genlerini indükleyen NF- κ B gibi sitokin genlerinin transkripsiyon faktörlerini inhibisyonu ile olduğu bildirilmektedir (Cengizlier ve Çetinkaya, 2002). Bu çalışmada allerjik rinitli ve kortikosteroid+ allerjik rinitli grupların doku ve serum IL-21 ve IL-33 seviyeleri karşılaştırıldığında kortikosteroid verilen grupta daha düşük değerlerde olduğu bulunmuştur. Bu sonuçlar kortikosteroidlerin sitokinlerin sentezini inhibe ettiğini desteklemektedir.

Allerjik rinitte IL-21, IL-33 ün doku ve serum seviyeleri ayrıca IgE ve OVA'ya spesifik IgE'nin antikor tiplerinin serumda belirlenmesi bir çok çalışmada olduğu gibi ELISA testi kullanılmıştır (Hiromura ve ark, 2007; Tamagawa- Mineoka, 2011; Glück ve ark,2012; Kamekura ve ark, 2012; Kim ve ark, 2012; Kishida ve ark,2007) . ELISA yöntemi güvenilir ve kantitatif bir yöntem olup, kolay uygulanabilir ve ekonomik olması nedeniyle tercih edilen bir testtir (Altınöz ve ark,1998). Altınöz ve arkadaşlarının ELISA yöntemiyle yaptığı çalışmada (1998) spesifik IgE için sensitivite %80,5 iken spesifite %83.3 olarak bulmuşlardır. Sakashita ve arkadaşlarının Japon sedir polinosislili hastalarında yaptıkları çalışmada serum IL-33 ELISA hassasiyet alt sınırı 30 pg/ ml olduğu bildirilmiştir (Sakashita ve ark,2008). Ayrıca Santulli ve arkadaşlarının endometriozislili kadın hastalar ile yaptığı çalışmada; hastaların serum ve periton sıvılarında IL-33 seviyesini ELISA yöntemiyle analiz etmiş olup belirleme aralığını 7,5-3500 ng / ml olduğunu bildirmişlerdir. Serumda allerjen spesifik IgE seviyesinin belirlenmesinde birçok yöntem kullanılmaktadır; bunlar RAST, F/N mRAST, Chemiluminometrik gibi yöntemlerdir. Wide ve arkadaşları (1967) tarafından tarif edilen RAST (Radio Allergo Sorbent Test) bu metodlar içinde en iyi bilinen olup sensitivitesi % 60-80, spesifitesi % 90'dan fazla olduğu bildirilmiştir.

Allerjik rinit patogenezi hastalardan alınan örneklerde moleküler düzeyde araştıran çalışmalar da bulunmaktadır. Burun mukozası hücrelerinde IL-33 ekspresyonunu artışı gerçek zamanlı *PCR* ve *RT- PCR* yöntemiyle mRNA'nın kontrol grubuna göre daha fazla sentezlendiği gösterilmiştir (Kamekura ve ark, 2012). Yaptığımız çalışmada da benzer olarak burun dokusunda IL-33 seviyesi kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur.

Ovalbümin kullanılarak duyarlaştırılmış allerjik rinitli sıçanlarda IL-33'ün dokudaki seviyesi allerjik rinitli grubun diğer gruplara göre yüksek oranda bulunması patogenezi rolünün olduğunu düşündürmektedir. İnterlökin-21'in doku ve serum değerleri gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır. Ancak grupların kendi içinde doku ve serum seviyeleri değerlendirildiğinde allerjik rinitli grubun doku değerleri ve serum değerlerine göre istatistiksel olarak daha yüksek bulunması allerjik rinit patogenezi

rolünün olduğunu düşündürmektedir. Bu çalışmadaki *Total* IgE değerleri kontrol grubunda daha yüksek bulunurken allerjik rinitli gruplarda daha düşük bulunmuştur. Bunun sebebi olarak IL-21'in baskılayıcı etkisinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür. OVA sIgE değerleri ise allerjik rinitli grupta yüksek olması allerjenin gerçekleştiğini düşündürmüştür.



6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Allerjik rinit patogeneğinde IL-21 ve IL-33'ün rolünün araştırıldığı bu hayvan modelinde sıçanlarda allerjik rinit, kortikosteroid+ allerjik rinit ve kontrol olmak üzere üç grup oluşturulmuştur. Oluşturulan modellerin doku ve serumlarında IL-21, IL-33; serum örneklerinde IgE ve OVA sIgE seviyeleri Adnan Menderes Üniversitesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalında çalışılmıştır. Bu çalışmada;

1. Allerjik rinit ve kortikosteroid+allerjik rinit gruplarında kontrol grubuna göre ovalbümine spesifik IgE daha yüksek seviyede bulunmuştur.
2. IL-33 allerjik rinitli dokularda kontrol grubuna göre daha yüksek seviyelerde bulunmuş ve allerjik rinit patogeneğinde bir rolünün olduğu düşünülmektedir.
3. IL-21 allerjik rinitli grupta dokudaki seviyeleri serum seviyelerine göre daha yüksek bulunmuş ve allerjik rinit patogeneğinde rolünün olduğu düşünülmüştür.
4. Total IgE seviyesi allerjik rinit ve kortikosteroid+ allerjik rinit grubu kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Bu düşüşün IL-21'in etkisiyle olabileceği düşünülmektedir.
5. İnterlökin-21 ve IgE seviyelerini düşürücü etkisi dikkate alındığında eksojen olarak IL-21 uygulanmasının IgE seviyesini azaltarak semptomları tedavisinde kullanıp kullanılmayacağı araştırılabilecek alanlardan biri olduğu düşünülmektedir.
6. Bu çalışmanın daha büyük örneklem büyüklüğüyle yapılması serum seviyelerinin anlamlı sonuçlar vermesini sağlayabilir.
7. IL-21 ve IL-33'ün allerjik rinit patogeneğinde rolünün moleküler ve hücresel boyuttaki etkilerinin incelenmesi yararlı olabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Akdis M, Burgler S, Cramer R, Eiwegger T, Fujita H, Gomez E, Klunker S, Meyer N, O'Mahony L, Palomares O, Rhyner C, Quaked N, Schaffartzik A, Veen WVD, Zeller S, Zimmermann M, Akdis CA.** Interleukins, from 1 to 37, and interferon-g: Receptors, functions, and roles in diseases. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2011, 127, 701-21.
- Akkan-Tetik N.** Allerjik Rinitli Hastalarda Kan Homosistein Düzeyi, Uzmanlık Tezi, Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı, Düzce 2009, 95.
- Akkuş Ö.** Deneysel Allerjik Rinit Modelinde Siklosporin ve Siklofosamid'in Topikal İntranazal Kullanılmasının Etkileri, Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi, Isparta 2007, 70.
- Ali S, Huber M, Kollwe C, Bischoff SC, Falk W, Martin MU.** IL-1 receptor accessory protein is essential for IL-33-induced activation of T lymphocytes and mast cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2007, 104, 18660–18665.
- Allakhverdi Z, Comeau MR, Smith DE, Toy D, Endam LM, Desrosiers M.** CD34+ hemopoietic progenitor cells are potent effectors of allergic inflammation. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2009, 123, 472–478.
- Altınöz S, Arıkan Z, Ersoy B, Çelik SS, Aydoğan A.** (1998) Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi, 5(2,3), 154-157.
- Apaydın Ş.** Astım, Allerjik Rinit ve Astım Allerjik Rinit Birlikteliği Olan Çocuklarda Egzersize BAĞLI Bronşial Hiperreaktivite Değerlendirilmesi, Uzmanlık Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Aydın 2008, 110.
- Avinçsal MÖ.** Sıçanlarda Oluşturulan Deneysel Allerjik Rinit Modelinde Topikal İntranazal Doksisisiklin Etkilerinin İncelenmesi, Uzmanlık Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı, İzmir 2010,74.
- Baekkevold ES, Roussigne M, Yamanaka T, Johansen FE, Jahnsen FL, Amalric F.** Molecular characterization of NF-HEV, a nuclear factor preferentially expressed in human high endothelial venules. *American Journal Of Pathology* 2003,163, 69-79.
- BARNES PJ** Pathophysiology of allergic inflammation. 5th. Mosby-Year Book Inc. Missouri 1. volume, 1998, 356.

- Bayram A.** Astımda Atopi ve Allerjik Rinit Sıklığı, Uzmanlık Tezi, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Kayseri 2007, 86.
- Bonanno A, Gangemi S, Grutta SL, Malizia V, Riccobono L, Colombo P, Cibella F and Profita M.** 25-Hydroxyvitamin D, IL-31, and IL-33 in Children with Allergic Disease of the Airways. *Hindawi Publishing Corporation Mediators of Inflammation* 2014, 520241,1-10.
- Borish L.** Allergic rhinitis: systemic inflammation and implications for management. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2003, 112, 1021-31.
- Bozoğlan H.** Allerjik Rinitli Hastalarda Astım, Atopik Dermatit ve Gıda Alerjisi Semptomlarının Sıklığı, Uzmanlık Tezi, Celal Bayar Üniversitesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Manisa 2011, 61.
- Brandt K, Bulfone-Paus S, Foster DC, Ruckert R.** Interleukin-21 inhibits dendritic cell activation and maturation. *The American Society of Hematology* 2003, 102(12), 4090–4098.
- Bunjhoo H, Yong C, Jungang X, Congyi W, Yongjian X, Weining X.** IL-21 does not involve in OVA-induced airway remodeling and chronic airway inflammation, *International Journal of Clinical and Experimental Medicine* 2015, 15, 8(7), 10640-5.
- Carriere V, Roussel L, Ortega N, Lacorre DA, Americh L, Aguilar L et al.** IL-33, the IL-1-like cytokine ligand for ST2 receptor, is a chromatin-associated nuclear factor in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2007, 104, 282–287.
- Caruso R, Fina D, Peluso I, Fantini MC, Tosti C, Del Vecchio Blanco G, et al.** IL-21 is highly produced in Helicobacter pylori-infected gastric mucosa and promotes gelatinases synthesis. *The Journal of Immunology* 2007, 178, 5957-65.
- Cayrol C, Girard JP.** The IL-1-like cytokine IL-33 is inactivated after maturation by caspase-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2009, 106, 9021–9026.
- Cengizlier R, Çetinkaya E.** (2002) *Türkiye Klinikleri Astım- Allerji İmmünoloji Dergisi*, 4,135-142.
- Ceylan S.** Behçet Hastalığında Eozinofil Aktivitesi Ve Atopi, Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Haseki Hastanesi Deri Ve Zührevi Hastalıklar Kliniği, İstanbul 2005, 60.
- Cherry W. B, Yoon J, Bartemes K. R, Iijima K, and Kita H.** A novel IL-1 family cytokine, IL-33, potently activates human eosinophils. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2008, 121, 6, 1484–1490.
- Choi YS, Choi HJ, Min JK, Pyun BJ, Maeng YS, Park H et al.** Interleukin-33 induces angiogenesis and vascular permeability through ST2/TRAF6-mediated endothelial nitric oxide production. *The American Society of Hematology* 2009, 114, 3117–3126.

- Christophi GP, Gruber RC, Panos M, Christophi RL, Jubelt B and Massa PT.** Interleukin-33 upregulation in peripheral leukocytes and CNS of multiple sclerosis patients. *Clinical Immunology* 2012,142, 308-319.
- Chuang YH, Yang YH, Wu SJ, Chiang BL.** Gene therapy for allergic diseases. *Current Gene Therapy* 2009, 9(3),185–191.
- Cingi C, Topuz B, Songu M, Kara CO, Ural A, Yaz A, et al.** Prevalence of allergic rhinitis among the adult population in Turkey. *Acta Otolaryngologica* 2010, 130,600-606.
- Coyle AJ, Lloyd C, Tian J, Nguyen T, Erikkson C, Wang L et al.** Crucial role of the interleukin 1 receptor family member T1/ST2 in T helper cell type 2-mediated lung mucosal immune responses. *Journal of Experimental and Clinical Medicine* 1999, 190,895–902.
- Çanakçıoğlu S, Tahami RV.** (1994) Allerjik rinit. *Medikal Dergi*, 100, 36-40.
- Deenick EK, Avery DT, Chan A, Berglund LJ, Ives IM, Moens L, Stoddard JL, Bustamante J, Boisson-Dupuis S, Tsumura M, Kobayashi M,Arkwright PD, Averbuch D, Engelhard D, JRoesler J, Peake J, Wong M, Adelstein S, Choo S, Smart JM, French MA, Fulcher DA, Cook MC, Picard C, Durandy A, Klein C, Holland SM, Uzel G, Casanova JL, Ma CS and Tangye1 SG.** Naive and memory human B cells have distinct requirements for STAT3 activation to differentiate into antibody-secreting plasma cells, *Journal of Experimental and Clinical Medicine* 2013, 210, 12 2739-275.
- Deniz F.** Behçet Hastalığında Serum Il-33 Düzeyi ve Il-33 Gen Polimorfizmleri, Uzmanlık Tezi, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Elazığ 2011, 66.
- Dinareello CA.** Immunological and Inflammatory Functions of the Interleukin-1 Family. *Annual Review Immunology* 2009, 27, 519–50.
- Distler JH, Jungel A, Kowal-Bielecka O, Michel BA, Gay RE, Sprott H, Matucci-Cerinic M, Chilla M, Reich K, Kalden JR, Muller-Ladner U, Lorenz HM, Gay S, Distler O.** Expression of interleukin-21 receptor in epidermis from patients with systemic sclerosis. *American College of Rheumatology* 2005, 52(3), 856–864.
- Frohlich A, Marsland BJ, Sonderegger I, Kurrer M, Hodge MR, Harris NL, Kopf M.** IL-21 receptor signaling is integral to the development of Th2 effector responses in vivo. *The American Society of Hematology* 2007,109, 2023-2031.
- Galli SJ, Nakae S, Tsai M.** Mast cells in the development of adaptive immune responses. *National Immunology* 2005, 6, 135–42.
- Galli SJ, Tsai M, Piliponsky AM.** The development of allergic inflammation. *Nature* 2008, 454, 445-54.

Glück J, Rymarczyk B, Rogala B. Serum IL-33 but not ST2 level is elevated in intermittent allergic rhinitis and is a marker of the disease severity. *Inflammation Research* 2012, 5, 547–50.

Gonca T. Astım ve Allerjik Riniti Olan Astım Hastalarında Polisomnografi Bulgularının Araştırılması, Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Tıp Fakültesi, Isparta 2012, 76.

Gong F, Su Q, Pan Y. H, Huang X And Shen W.H. The emerging role of interleukin-21 in allergic diseases (Review). *Academic Journal* 2013,10, 3892, 166.

Guo-Zhu H, Xi-ling Z, Zhu W, Li-Hua W, Dan H, Xiao-mu W, Wen-yun Z, Wei-xu H. Therapeutic potential of combined anti-IL-1 β IgY and anti-TNF- α IgY in guinea pigs with allergic rhinitis induced by ovalbumin. *International Immunopharmacology* 2014 23, 1, 273–282.

Gudbjartsson DF, Bjornsdottir US, Halapi E, Helgadottir A, Sulem P, Jonsdottir GM, Thorleifsson G, Helgadottir H, Steinthorsdottir V, Stefansson H, Williams C et al. Sequence variants affecting eosinophil numbers associate with asthma and myocardial infarction. *Nature Genetics* 2009, 41, 342-347.

Habib T, Senadheera S, Weinberg K, Kaushansky K. The common gamma chain (gamma c) is a required signaling component of the IL-21 receptor and supports IL-21-induced cell proliferation via JAK3. *Biochemistry* 2002, 41, 8725-31.

Haenuki Y, Matsushita K, Futatsugi-Yumikura S, Ishii KJ, Tatsukata K, Yoshimasa I, Shigeharu F, Yasuda M, et al. A critical role of IL-33 in experimental allergic rhinitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2012, 130, 184–94.

Hiromura Y, Kishida T, Nakano H, Hama T, Imanishi J, Hisa Y and Mazda O. IL-21 administration into the nostril alleviates murine allergic rhinitis. *The Journal of Immunology* 2007, 179, 7157-7165.

Ho LH, Ohno T, Oboki K, Kajiwara N, Suto H, Iikura M, et al. IL-33 induces IL-13 production by mouse mast cells independently of IgE-Fc ϵ RI signals. *Journal Leukocyte Biology* 2007, 82, 1481-90.

Huang X, Yang Q, Chen Y, Li P, Zhang G, Li Y. Expressions of IL-17, IL-21 And IL-23 In The Serum of Allergic Rhinitis Patients. *Journal of Medical Biochemistry* 2011, 30 (4), 323-327.

Hueber AJ, Alves-Filho JC, Asquith DL, Michels C, Millar NL, Reilly JH et al. IL-33 induces skin inflammation with mast cell and neutrophil activation. *European Journal of Immunology* 2011, 41, 2229–2237.

- İnan N.** Allerjik Rinit ve Kronik Rinosinüzitli Hastaların Sağlıkla İlişkili Yaşam Kalitesinin Değerlendirilmesi, Uzmanlık Tezi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Edirne 2003, 68.
- Jen H. Y, Yang Y. H, Chiang B.L and Chuang Y.H.** Upregulated Interleukin-21 Receptor on B Cells Associated with the Downregulation of IgE in Patients with Allergic Rhinitis. *Journal of Interferon & Cytokine Research* 2015, 35, 42-48.
- Jin H, Carrio R, Yu A and Malek TR.** Distinct activation signals determine whether IL-21 induces B cell costimulation, growth arrest, or Bim-dependent apoptosis. *The Journal of Immunology* 2004, 173, 657-665.
- Joshi AD, Oak SR, Hartigan AJ, Finn WG, Kunkel SL, Duffy KE, Das A, Hogaboam CM.** Interleukin-33 contributes to both M1 and M2 chemokine marker expression in human macrophages. *BMC Immunology* 2010, 11, 52, 2-10.
- Kabata H, Moro K, Fukunaga K, Suzuki Y, Miyata J, Masaki K, Betsuyaku T, Koyasu S, Asano K.** Thymic stromal lymphopoietin induces corticosteroid resistance in natural helper cells during airway inflammation. *Nature Communications* 2013, 4, 26-75.
- Levani Y, Hendriks R.W.** Pulmonary innate lymphoid cell are major producers of IL-5 and IL-13 in murine models of allergic asthma. *European Journal Immunology* 2012, 42, 1106–1116.
- Kadıköylü S.** Allerjik Rinitli Hastalarda Mevsimsel Bronşial Hiperreaktivite Değişimi, Uzmanlık Tezi, Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Ve Baş Boyun Cerrahisi Anabilim Dalı, Denizli 2007, 46.
- Kamekura R, Kojima T, Takano K, Go M, Sawada N, Himi T.** The role of IL-33 and its receptor ST2 in human nasal epithelium with allergic rhinitis. *Clinical & Experimental Allergy* 2012, 42, 218–28.
- Karabıçak H.** Allerjik Rinitli Hastalarda Flutikazon Propiyonatın Tek Başına, Levosetrisin veya Montelukast İle Birlikte Kullanımlarının Tedavi Üzerine Etkinliklerinin Karşılaştırılması, Uzmanlık Tezi, Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Anabilim Dalı, Kırıkkale 2011, 146.
- Karaşen M.** Allerjik rinit fizyopatolojisi In: Doğru H, Topuz B. Kulak Burun Boğazda Allerjik Hastalıklar Birinci baskı, İstanbul, 2001: 3-8.
- Kawabe T, Naka T, Yoshida K, Tanaka T, Fujiwara H, Suematsu S, et al.** The immune responses in CD40-deficient mice: impaired immunoglobulin class switching and germinal center formation. *Immunity* 1994, 1, 167-78.

- Kim Y.H, Yang T.Y, Park C.S, Ahn S.H, Son B.K, Kim J.H, Lim D.H, Jang T.Y.** Anti-IL-33 antibody has a therapeutic effect in a murine model of allergic rhinitis. *Allergy* 2012, 67, 183–190.
- King, C.** New insights into the differentiation and function of T follicular helper cells. *Nature Reviews Immunology* 2009, 9, 757–766.
- Kishida T, Hiromura Y, Shin-Ya M et al.** IL-21 induces inhibitor of differentiation 2 and leads to complete abrogation of anaphylaxis in mice. *The Journal of Immunology* 2007, 179, 8554–61.
- Kondo Y, Yoshimoto T, Yasuda K, Futatsugi- Yumikura S, Morimoto M, Hayashi N et al.** Administration of IL-33 induces airway hyperresponsiveness and goblet cell hyperplasia in the lungs in the absence of adaptive immune system. *International Immunology* 2008, 20, 791–800.
- Korkut N.** Allerjik rinitte medikal tedavi. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Allerjiler Sempozyumu, s. 95-104, 15-16 Mart 2001, İstanbul.
- Kuhl K, Hanania NA.** Targeting IgE in asthma. *Current Opinion in Pulmonary Medicine* 2012, 18(1), 1–5.
- Kurowska-Stolarska M, Stolarski B, Kewin P, Murphy G, Corrigan CJ, Ying S et al.** IL-33 amplifies the polarization of alternatively activated macrophages that contribute to airway inflammation. *The Journal of Immunology* 2009, 183, 6469–6477.
- Kurt Y.** Allerjik Rinitli Ratların Burun Mukazalarındaki AQP5 Düzeyleri Üzerine Spesifik Protein Kinaz A İnhibitörü Olan H89'un Etkileri, Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Tıp Fakültesi, Isparta 2012, 88.
- Lajoie S, Lewkowich I, Herman NS, Sproles A, Pesce JT, Wynn TA, Grusby MJ, Hamid Q, Wills-Karp M.** IL-21 receptor signalling partially mediates Th2-mediated allergic airway responses. *Clinical & Experimental Allergy* 2014, 44, 976-985.
- Lamkanfi M, Dixit VM.** IL-33 raises alarm. *Immunity* 2009, 31, 5-7.
- Likura M, Suto H, Kajiwara N, Oboki K, Ohno T, Okayama Y, Saito H, Galli SJ, Nakae S.** IL-33 can promote survival, adhesion and cytokine production in human mast cells. *Nature* 2007, 87, 971-978.
- Lin P.Y, Jen H.Y, Chiang B.L, Sheu F and Chuang Y.H.** Interleukin-21 suppresses the differentiation and functions of T helper 2 cells. *Immunology* 2014, 144, 668-676.
- Lin SC, Chuang YH, Yang YH, Chiang BL.** Decrease in interleukin-21 in children suffering with severe atopic dermatitis. *Pediatr Allergy Immunology* 2011, 22(8), 869–875.

Liu R, Wu Q, Su D, Che N, Chen H, Geng L, Chen J, Chen W, Li X, Sun L. A regulatory effect of IL-21 on T follicular helper-like cell and B cell in rheumatoid arthritis. *Arthritis Research & Therapy* 2012, 14, 255.

Liu X, Li M, Wu Y, Zhou Y, Zeng L, Huang T. Anti-IL-33 antibody treatment inhibits airway inflammation in a murine model of allergic asthma. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2009, 386, 181–185.

Lloyd CM. IL-33 family members and asthma – bridging innate and adaptive immune responses. *Current Opinion in Immunology* 2010, 22, 800–806.

Meltzer EO Is successful control of perennial rhinitis achievable. *European Respiratory Review* 1994, 20, 266-70.

Miller AM, Xu D, Asquith DL, Denby L, Li Y, et al. IL-33 reduces the development of atherosclerosis. *Journal of Experimental and Clinical Medicine* 2008, 205, 339–346.

Mizutani N, Nabe T, Yoshino S. IL-17A promotes the exacerbation of IL-33-induced airway hyperresponsiveness by enhancing neutrophilic inflammation via CXCR2 signaling in mice. *Journal of Immunology* 2014, 192, 1372–1384.

Moussion C, Ortega N, Girard JP. The IL-1-like cytokine IL-33 is constitutively expressed in the nucleus of endothelial cells and epithelial cells in vivo: a novel “alarmin”? *Plos one* 2008, 106, 9021-9026.

Nabe T, Hiroki W, Chihiro Y, Ayumi N, Rino Y., Hitomi K, Yusaku T, Ayumi T, Haruka K, Anna T, Masaya M, Keiichi I, Satoshi A, Susumu O, Hiroyuki F, Nobuaki M, Shin Y. Production of interleukin (IL)-33 in the lungs during multiple antigen challenge induced airway inflammation in mice, and its modulation by a glucocorticoid. *Elsevier* 2015, 754, 34-41.

Noah TL, Becker S. Chemokines in nasal secretions of normal adults experimentally infected with respiratory syncytial virus. *Clinical Immunology* 2000, 97, 43-9.

Oboki K, Ohno T, Kajiwara N, Arae K, Morita H, Ishii A et al. IL-33 is a crucial amplifier of innate rather than acquired immunity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2010, 107, 18581–18586.

Oettgen HC, Geha RS. IgE regulation and roles in asthma pathogenesis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2001, 107, 429-40.

Ohno T, Morita H, Arae K, Matsumoto K, Nakae S. Interleukin-33 in allergy. *Allergy* 2012, 67, 1203–1214.

Okano M. Mechanisms and clinical implications of glucocorticosteroids in the treatment of allergic rhinitis. *Clinical Experimental & Immunology* 2009, 158, 164–73.

Ozaki K, Kikly K, Michalovich D, Young PR, Leonard WJ. Cloning of a type I cytokine receptor most related to the IL-2 receptor beta chain. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2000, 97, 11439-44.

Özer F, Yosunkaya Ş. (2005) *Genel Tıp Dergisi*, 15(2), 91-99.

Palmer G, Lipsky BP, Smithgall MD, Meininger D, Siu S, Talabot-Ayer D, Gabay C, Smith DE. The IL-1 receptor accessory protein (AcP) is required for IL-33 signaling and soluble AcP enhances the ability of soluble ST2 to inhibit IL-33. *Cytokine* 2008, 42, 358-364.

Parrish-Novak J, Dillon SR, Nelson A, Hammond A, Sprecher C, Gross JA, et al. Interleukin 21 and its receptor are involved in NK cell expansion and regulation of lymphocyte function. *Nature* 2000, 408, 57-63.

Peluso I, Fantini MC, Fina D, Caruso R, Boirivant M, Mac-Donald TT, Pallone F, Monteleone G. IL-21 counteracts the regulatory T cell-mediated suppression of human CD4 + T lymphocytes. *The Journal of Immunology* 2007, 178(2), 732–739.

Pene J, Guglielmi L, Gauchat J. F, Harrer N, Woisetschlager M, Boulay V, Fabre J.M, Demoly P and Yssel H. IFN-gamma-mediated inhibition of human IgE synthesis by IL-21 is associated with a polymorphism in the IL-21R gene. *The Journal of Immunology* 2006, 177, 5006–5013.

Petrella TM, Tozer R, Belanger K, Savage KJ, Wong R, Smylie M, Kamel-Reid S, Tron V, Chen BE, Hunder NN, Hagerman L, Walsh W, Eisenhauer EA. Interleukin-21 has activity in patients with metastatic melanoma: a phase II study. *Journal of Clinical Oncology* 2012, 30, 3396-3401.

Préfontaine D, Lajoie-Kadoch S, Foley S, Audusseau S, Olivenstein R, Halayko AJ, Lemièrre C, Martin JG, Hamid Q. Increased expression of IL-33 in severe asthma: evidence of expression by airway smooth muscle cells. *The Journal of Immunology* 2009, 183, 5094-103.

Prefontaine D, Nadigel J, Chouiali F et al. Increased IL-33 expression by epithelial cells in bronchial asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2010, 125, 752–4.

Pushparaj PN, Tay HK, H'ng SC, Pitman N, Xu D, McKenzie A et al. The cytokine interleukin-33 mediates anaphylactic shock. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2009, 106, 9773–9778.

Raveney BJE, Oki S, Yamamura T. Nuclear receptor NR4A2 orchestrates Th17 cell-mediated autoimmune inflammation via IL-21 signalling. *Plos One* 2013, 8, e56595, 1-10.

Rogala B, Glück J. The role of interleukin-33 in Rhinitis. *Current Allergy and asthma* 2013, 13, 196-202.

- Roussel L, Erard M, Cayrol C, Girard JP.** Molecular mimicry between IL-33 and KSHV for attachment to chromatin through the H2A-H2B acidic pocket. *European Molecular Biology Organization* 9,1006-1012, 2008, İngiltere.
- Sakashita M, Yoshimoto T, Hirota T et al.** Association of serum interleukin-33 level and the interleukin-33 genetic variant with Japanese cedar pollinosis. *Clinical & Experimental Allergy* 2008, 38,1875–81.
- Santegoets S, Turksma A, Suhoski M, Stam A, Albelda S, Hooijberg E, Scheper R, van den Eertwegh A, Gerritsen W, Powell D, June C, de Gruijl T.** IL-21 promotes the expansion of CD27+CD28+ tumor infiltrating lymphocytes with high cytotoxic potential and low collateral expansion of regulatory T cells. *Journal of Translation Medicine* 2013, 11, 37.
- Sarin S, Undem B, Sanico A, Togias A.** The role of the nervous system in rhinitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2006, 118, 999-1016.
- Sarra M, Cupi ML, Pallone F and Monteleone G.** Interleukin-21 in immune and allergic diseases. *Inflammation Allergy Drug Targets* 2012, 11, 313-319.
- Schmitz J, Owyang A, Oldham E, Song Y, Murphy E, McClanahan TK, et al.** IL-33, an interleukin 1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity* 2005, 23, 479–90.
- Silver MR, Margulis A, Wood N, Gold SJ, Kasaian M, Chaudhary D.** IL-33 synergizes with IgE-dependent and IgE independent agents to promote mast cell and basophil activation. *Inflammation Research* 2010,59, 207–218.
- Skoner DP.** Allergic rhinitis: definition, epidemiology, pathophysiology, detection, and diagnosis. . *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2001,108, 2-8.
- Smithgall MD, Comeau MR, Park Yoon BR, Kaufman D, Armitage R, Smith DE.** IL-33 amplifies both Th1- and Th2-type responses through its activity on human basophils, allergen reactive Th2 cells, iNKT and NK Cells. *International Immunology* 2008,20,1019-1030.
- Smithgall MD, Comeau MR, Park Yoon BR, Kaufman D, Armitage R, Smith DE.** IL-33 amplifies both Th1- and Th2-type responses through its activity on human basophils, allergenreactive Th2 cells, iNKT and NK Cells. *International Immunology* 2008,20,1019-1030.
- Spolski R and Leonard WJ.** Interleukin-21: basic biology and implications for cancer and autoimmunity. *Annual Review of Immunology* 2008, 26, 57-79.
- Spolski R, Kim HP, Zhu W, Levy DE, Leonard WJ.** IL-21 mediates suppressive effects via its induction of IL-10. *The Journal of Immunology* 2009, 182(5), 2859–2867

Spolski R, Leonard WJ. Interleukin 21:a double –edged sword with therapeutic potential *Nature Reviews Drug Discovery* 2014, 13,379–395.

Strengell M, Matikainen S, Siren J, Lehtonen A, Foster D, Julkunen I, Sareneva T. IL-21 in synergy with IL-15 or IL-18 enhances IFN-gamma production in human NK and T cells. *The Journal of Immunology* 2003, 170(11), 5464–5469.

Strengell M, Sareneva T, Foster D, Julkunen I, Matikainen S. IL-21 up-regulates the expression of genes associated with innate immunity and Th1 response. *The Journal of Immunology* 2002, 169(7), 3600–3605.

Suto A, Nakajima H, Hirose K, et al. Interleukin 21 prevents antigen-induced IgE production by inhibiting germ line Cε transcription of IL-4-stimulated B cells. *The American Society of Hematology* 2002,100, 4565-4573.

Suzukawa M, Likura M, Koketsu R, Nagase H, Tamura C, Komiya A, Nakae S, Matsushima K, Ohta K, Yamamoto K, Yamaguchi M. An IL-1 cytokine member, IL-33, induces human basophil activation via its ST2 receptor. *The Journal of Immunology* 2008,181, 5981-5989. (a)

Suzukawa M, Koketsu R, Iikura M, Nakae S, Matsumoto K, Nagase H, Saito H, Matsushima K, Ohta K, Yamamoto K, Yamaguchi M. Interleukin-33 enhances adhesion, CD11b expression and survival in human eosinophils. *Nature* 2008, 88, 1245-1253. (b)

Şahiner M. Endotoksin Sinyal Yolağında Yer Alan Moleküllere Ait Genetik Farklılıkların *İn-Vitro* IgE Sentezi, Astım Ve Atopi Fenotipleri Üzerine Etkileri, Yandal Uzmanlık Tezi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara 2012, 135.

Tamagawa-Mineoka R, Kishida T, Mazda O, Katoh N. IL-21 reduces immediate hypersensitivity reactions in mouse skin by suppressing mast cell activation or IgE production. *Journal of Investigative Dermatology* 2011, 131, 1513–1520.

Terrier B, Geri G, Chaara W, Allenbach Y, Rosenzweig M, Costedoat-Chalumeau N, Fouret P, Musset L, Benveniste O, Six A, Klatzmann D, Saadoun D, Cacoub P. Interleukin-21 modulates Th1 and Th17 responses in giant cell arteritis. *Arthritis & Rheumatology* 2012, 64, 2001-2011.

Tokmak B. Allerjik Rinitli Hastalarda Migren Görülme Sıklığı, Uzmanlık Tezi, Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim dalı, Düzce 2007, 60.

Ugai S, Shimozaoto O, Yu L, Wang YQ, Kawamura K, Yamamoto H, et al. Transduction of the IL-21 and IL-23 genes in human pancreatic carcinoma cells produces natural killer cell-dependent and -independent antitumor effects. *Nature* 2003, 10, 771-8.

Uysal-Soyer Ö. Astımlı Çocuklarda CD14 C159T Polimorfizminin İn Vitro Ig E Sentezi Üzerine Etkileri, Yandal Uzmanlık Tezi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Ankara 2008, 72.

Waldmann T.A. The biology of interleukin-2 and interleukin-15: implications for cancer therapy and vaccine design. *Nature Reviews Immunology* 2006, 6, 595–601.

Wang G, Tschoi M, Spolski R, Lou Y, Ozaki K, Feng C, et al. In vivo antitumor activity of interleukin 21 mediated by natural killer cells. *Cancer Research* 2003, 63, 9016-22.

Werman A, Werman-Venkert R, White R, Lee JK, Werman B, et al. The precursor form of IL-1 α is an intracrine proinflammatory activator of transcription. *Proceeding of the. National Academy of Science* 2004, 101, 2434–39.

Wide L. Bennich H, Johansson SG. Diagnosis of allergy by an in-vitro test of allergen antibodies. *The Lancet* 1967, 2, 1105-1107.

Yaz A. Rinofototerapinin Allerjik Rinitli Olgularda Yaşam Kalitesine Etkisi, Uzmanlık Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı, Eskişehir 2008, 53.

Yoshimasa R, Takabayashi I. T, Sakashita M, Tokunaga T, Ninomiya T, Ito Y, Narita N, Yamada T, Fujieda S. Peripheral basophil reactivity, CD203c expression by Cryj1 stimulation, is useful for diagnosing seasonal allergic rhinitis by Japanese cedar pollen. *Immunity, Inflammation and Disease* 2015, 3(3), 300–308.

Yu D and Vinuesa C.G. The elusive identity of T follicular helper cells. *Trends in Immunology* 2010, 31, 377–383.

Yuan FL, Hu W, Lu WG, Li X, Li JP, Xu RS, et al. Targeting interleukin-21 in rheumatoid arthritis. *Molecular Biology Reports* 2011, 38, 1717-21.

WEB_1. The medicine of Georgia, College of Veterinary Medicine
http://vet.uga.edu/ivcvm/courses/VPAT5200/03_inflammation/07_imi/imi02.html
(23.05.2016)

WEB_2. İstanbul Üniversitesi http://www3.istanbul.edu.tr/itf/fizyoloji/Ogrenci_Isleri/2014-2015/EDINSEL_2014.pdf (23.05.2016)

EKLER

Ek 1 . Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu



I.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(ADÜ-HADYEK)



Aydın, 29 Ağustos 2014

Oturum : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2014 Yılı VII. Oturumu
Sayı : 64583101/2014/122
Proje Başlığı : Alerjik rinit patogeneğinde IL-21 ve IL-33'ün yerinin araştırılması
Proje Yürütücüsü : Neriman AYDIN
Proje Ekibi : Işıl BAKIŞ, Ceren GÜNEL, Buket DEMİRCİ, Mete EYİGÖR

Bu çalışmanın hiçbir bölümünde:

İnsan embriyosu ve fötüsü kullanılması
İnsan embriyosu ve fötüsü dokularının kullanılması
Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması

Hayvan Çalışması : İnsanlarda araştırma
İnsan olmayan primatların kullanılması
Transgenik hayvanların kullanılması
Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.

Doç. Dr. Tufan DOST
(Başkan)

İzinli
Prof. Dr. İbrahim CEMAL
(Üye)

İzinli
Yrd. Doç. Dr. Cengiz ÜNSAL
(Üye)

Doç. Dr. Yücel KOCA
(Üye)

Vet. Hek. Ufuk SAYIN
(Üye)

İzinli
Dr. Nurten ATALAY
(Üye)

Vet. Hek. Serdar AKTAŞ
(Üye)

Şevket AKYOL (Raporör)

Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir.

ÖZGEÇMİŞ

Soyadı, Adı :Bakış, Işıl
Uyruk : T.C
Doğum yeri ve tarihi : 13.05.1990
Telefon : 05377247138
E-mail : isilbakis2@gmail.com
Yabancı Dil : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Lisans	Adnan Menderes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü	2013
	Adnan Menderes Üniversitesi Eğitim Fakültesi Pedagojik Formasyon Programı, Biyoloji Bölümü	2015

BURSLAR ve ÖDÜLLER:
xxxx

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Yer/Kurum	Ünvan

AKADEMİK YAYINLAR

1. MAKALELER

2. PROJELER

3. BİLDİRİLER

A) Uluslararası Kongrelerde Yapılan Bildiriler

B) Ulusal Kongrelerde Yapılan Bildiriler