

SABİHA LEYLA PUR ÖZYİĞİT

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2018

**T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**OBEZİTE İLİŞKİLİ ASTİM PATOGENEZİ; VÜCUT KİTLE
İNDEKSİ VE DOĞAL ÖLDÜRÜCÜ HÜCRE ALT GRUPLARI**

DR. SABİHA LEYLA PUR ÖZYİĞİT

PROF.DR. GÜNNUR DENİZ

**AZİZ SANCAR DENEYSEL TIP ARAŞTIRMA ENSTİTÜSÜ
İMMÜNOLOJİ ANABİLİM DALI**

İSTANBUL-2020

TEZ ONAYI**DOKTORA TEZİ ONAYI**

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İmmünoloji Anabilim Dalı, İmmünoloji Programında Doktora öğrencisi Sabiha Leyla PUR ÖZYİĞİT tarafından Prof. Dr. Günnur DENİZ'in danışmanlığında hazırlanan **“Obezite İlişkili Astım Patogenezi; Vücut Kitle İndeksi ve Doğal Öldürücü Hücre Alt Gruplar”** başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 18.02.2020 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Günnur DENİZ
İ.Ü. Aziz Sancar DETAE
İmmünoloji Anabilim Dalı



Prof. Dr. Güher SARUHAN DİRESKENELİ
İ.Ü. İstanbul Tıp Fakültesi
Fizyoloji Anabilim Dalı



Prof. Dr. Esin ÇETİN
İ.Ü. Aziz Sancar DETAE
İmmünoloji Anabilim Dalı



Prof. Dr. Bilun GEMİCİOĞLU
İ.Ü.- Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fak.
Göğüs Hastalıkları A.D.



Prof. Dr. Hasan BAYRAM
Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi
Göğüs Hastalıkları A.D.

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.



Sabiha Leyla Pur Özyiğit



Canım kızım İdil'e...

TEŞEKKÜR

Bana immünolojinin, bilim insanı olmanın temelini öğreten, en zor anımda, inancımı yitirdiğimde, yolumu kaybettiğimde yardımını esirgemeyen, her yaptığından büyük feyz aldığım, bazen inanamayarak ama hep hayranlıkla seyrettiğim ve ömür boyu müteşşekkiri olacağım, çok değerli Hocam, Tez Danışmanım, Prof. Dr. Günnur Deniz'e,

Doktoraya başladığım günden bitirmeme dek her aşamada hep yanımda olan özverili, fedakar ve ilkeli arkadaşım Prof. Dr. Esin Çetin Aktaş'a,

Bilgisi, becerisi, çalışkanlığı ve yardımseverliği ile laboratuvar becerisi kazanmamda büyük katkısı olan arkadaşım Dr. Yusuf Metin Gelmez'e,

Meslek hayatımın her dönüm noktasında beni bir sonraki basamağa taşıyan, emeklerinin karşılığını ödeyemeyeceğim değerli Hocam Prof. Dr. Bilun Gemicioğlu'na,

Doktora yeterlilik sınavımda bulunmalarından onur duyduğum değerli Hocalarım, Prof. Dr. Güher Saruhan Direskeneli, Prof. Dr. Selim Badur, Doç. Dr. Gülderen Demirel, kalp sızısı ve hürmetle andığım Prof. Dr. Işıl Barlan'a,

Aziz Sancar DETAE çatısı altında keyifle çalıştığım, başarılarını hayranlıkla seyrettiğim, herbiri bir diğerinden daha özel, daha içten ve daha değerli olan tüm Hocalarım'a, canım arkadaşlarım'a,

Bana güvenerek canlarını emanet eden, bitmeyen merak ve heyecan kaynağım sevgili hastalarım,

Özel hastanede ve özel üniversitede görev yapıyor olmama karşın, doktora yapma arzumu destekleyen Vehbi Koç Vakfı'na,

Beni sonsuz emek ve fedakarlıkla yetiştiren, hala büyötmeye uğraşan Annem'e ve Babam'a,

En iyi dostum, diğer yarım, eşim, Dr. Tolga Özyiğit'e,

Bana kendimi öğreten, annesi ile geçireceği zamanı, doğumundan beri emek verdiği İmmünoloji doktora eğitimim ile paylaşan canım kızım İdil Özyiğit'e...

Sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 49482

Leyla Pur Özyiğit

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	2
BEYAN.....	3
TEŞEKKÜR.....	5
İÇİNDEKİLER	6
TABLolar LİSTESİ.....	8
ŞEKİLLER LİSTESİ	9
SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ	10
ÖZET	12
ABSTRACT.....	13
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	14
2. GENEL BİLGİLER	16
2.1. Astım.....	16
2.2 Obezite	22
2.4 Doğal Öldürücü Hücreler.....	29
2.5 Doğal Lenfoid Hücreler	30
2.6 Obezite Astımında Doğal İmmünite, Doğal Lenfoid Hücreler ve Doğal Öldürücü Hücreler	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	33
3.1. Hasta seçimi	33
3.2. Astım tanısı ve fenotip belirlenmesi	34
3.3. Astım kontrolünün ve ağırlığının değerlendirilmesi.....	35
3.4. Örnek toplama ve değerlendirme.....	37
3.4.1. Örnek temini	37
3.4.2. Deneyde Kullanılan Kimyasal Malzemeler	37
3.4.2.1. Ficoll	37
3.4.2.2. Fiksasyon ve Permeabilizasyon Kiti	37
3.4.2.3. Lizis Çözeltisi.....	37
3.4.2.4. PBS (Fosfat Tampon Tuz Çözeltisi)	38
3.4.2.5. Roswell Park Memorial Institute kültür (RPMI) 1640	38
3.5. Hücre Yüzey Molekül Ekspresyonlarının Belirlenmesi	38

3.6. Periferik Kan Mononükleer Hücre (PKMH) Eldesi	38
3.7. NK Alt Gruplarında Hücre İçi Sitokin ve NK Reseptörlerinin Tayini	39
3.8. NK Sitotoksitesinin CD107a ve Granzim A Salınımı ile Belirlenmesi	40
3.9. Analiz ve İstatistikler	40
4. BULGULAR.....	42
4.1. Hastaların Demografik Özellikleri.....	42
4.2. Periferik Kan NK Hücre Alt Gruplarının ve Reseptör Düzeylerinin Saptanması .44	
4.3. Sitokinle Aktive PKMH’lerde NK Hücre Yanıtları.....	47
4.4. NK Hücre Alt Grupları Hücre İçi Sitokin İçeriği	52
4.5. NK Sitotoksik Aktivitesinin CD107a ve Granzim Salınımı ile Değerlendirilmesi57	
5. TARTIŞMA	59
KAYNAKLAR	64
FORMLAR	79
ETİK KURUL KARARI	81
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	82
ÖZGEÇMİŞ	83

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2-1: Astımda kontrol değeriendirmesi [1]	19
Tablo 2-2: Obezite sınıflaması [29]	23
Tablo 2-3: Obezitenin insan lökosit fonksiyonları üzerine etkileri [40]	25
Tablo 3-1: Astım Kontrol Testi [2]	36
Tablo 3-2: Hücre yüzey boyamada kullanılan monoklonal antikorlar	40
Tablo 4-1: Obezite ilişkili astım ve kontrol gruplarının karşılaştırılması.....	43
Tablo 4-2 Astım başlangıç yaşına göre hücre ve NK hücre reseptörleri oranları.....	47
Tablo 4-3 Astım varlığına göre NK hücre reseptörleri oranları	51
Tablo 4-4 Astım başlangıç yaşına göre hücre ve NK hücre reseptörleri oranları.....	53

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Astım oluşumu [2].....	16
Şekil 2-2: Allerjik astım patogenezi [2].....	17
Şekil 2-3: Tip 2 enflamasyon ve astım endotipleri[27]	20
Şekil 2-4: Astım tanısal yaklaşım algoritması [2, 1]	21
Şekil 2-5: Obezite ilişkisi pulmoner konak yanıtta bozulma [40]	25
Şekil 2-6: Farklı obezite ilişkili astım fenotipleri [87]	28
Şekil 3-1: Çalışma akış şeması	33
Şekil 4-1: CD3- hücre grubunda NK hücre kapılama stratejisi	45
Şekil 4-2: CD3- hücre grubunda NK hücre reseptörleri	45
Şekil 4-3: CD56soluk ve CD56parlak NK hücre alt grup oranlarının karşılaştırılması .	46
Şekil 4-4: Farklı sitokinlerle uyarı sonrası astım başlangıç yaşına göre farklı gruplarda CD56soluk ve CD56parlak NK hücre oranları.....	48
Şekil 4-5: IL-12 ile stimüle koşulda VKİ ile CD69 yüzde ekspresyonunun korrelasyonu	49
Şekil 4-6: Sitokin uyarısının CD3- hücre popülasyonunda NKp44 reseptör ekspresyonuna etkisi	50
Şekil 4-7: Sitokin uyarısının CD56soluk hücre popülasyonunda NKG2D reseptör ekspresyonuna etkisi	52
Şekil 4-8: Astım başlangıcına göre sınıflamada, farklı uyarıların CD3-CD56soluk NK hücre içi sitokin düzeylerine etkisi	55
Şekil 4-9: Astım başlangıcına göre sınıflamada, farklı uyarıların CD3-CD56parlak NK hücre içi sitokin düzeylerine etkisi	56
Şekil 4-10: Astımlı hasta ve kontrollerde CD3- NK hücre popülasyonunda sitotoksik aktivitenin CD107a ekspresyonu ile değerlendirilmesi	58

SEMBOLLER / KISALTMALAR LİSTESİ

AKT	: Astım kontrol testi
CD	: Farklılaşma kümesi (Cluster of differetiation)
DETAE	: Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü
DNA	: Deoksiribo Nükleik asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
FACS	: Floresan Aktive Hücre Ayırma (Fluorescence-activated cell sorting)
FEV1	: Birinci saniyedeki zorlu soluk verme hacmi (Forced expiratory volume in one second)
FSC	: İleri saçılım kanalı (Forward scatter channel) detektörü
FVC	: Zorlu vital kapasite (Forced vital capacity)
GINA	: Astım için Küresel Girişim (Global Initiative for Asthma)
GM-CSF	: Granülosit-monosit koloni uyarıcı faktör
HLA	: İnsan lökosit antijeni
IFN- γ	: İnterferon-gama
Ig	: İmmünglobülin
IL	: Interlökin
ILC	: Doğal lenfoid hücreler (Innate lymphoid cells)
iNK	: Olgunlaşmamış NK hücresi (Immature NK)
K562	: Eritromiyeloid lösemi hücre serisi
KIR	: Killer immünoglobulin benzeri reseptörler
M1	: Klasik yol ile aktive olan makrofajlar
M2	: Alternatif yol ile aktive olan makrofajlar
MHC	: Ana doku uyumluluk kompleksi (Major Histocompatibility Complex)
NK	: Doğal Öldürücü Hücre (Natural Killer)
NKreg	: Regülatör Düzenleyici NK hücresi
NKT	: Natural killer T, Doğal öldürücü T Hücreler

OA	: Obezite Astımı
p	: Olasılık (probability) değeri
PBS	: Fosfat dengeli salin solüsyonu (Phosphate buffered saline)
PKMH	: Periferik Kan Mononükleer Hücre
PMA	: Forbol miristat asetat (phorbol myristate acetate)
RPM	: Dakikadaki Dönme Sayısı (Revolutions Per Minute)
RPMI	: Roswell Park Memorial Institute kültür
SPSS	: Sosyal Bilimler için Çok Değişkenli İstatistik (Statistical Package for the Social Sciences)
SSC	: Yana saçılım kanalı (Side scatter channel) detektörü
Th1	: Tip 1 yardımcı T hücre (T helper 1)
Th2	: Tip 2 yardımcı T hücre (T helper 2)
TNF- α	: Tümör nekroz faktörü alfa (α)
TSLP	: Timik stromal lenfopoietin
VKI	: Vücut kitle indeksi
$\gamma\delta$	: Gamma delta

ÖZET

Pur-Özyiğit, L. (2006). İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İmmünoloji AD. Doktora Tezi, İstanbul. 2020.

Obezite ilişkili astım (OA), artan insidansı ve özgün tedavi seçeneklerinin henüz kullanımda olmaması nedeniyle önemli bir araştırma konusudur. Doğal Öldürücü (Natural Killer-NK) hücrelerin OA patogenezindeki yerleri henüz aydınlatılmamıştır. Bu çalışmada, NK hücrelerinin OA hastalarında vücut kitle indeksi (VKİ) ile ilişkisi ve farklı OA alt gruplarındaki etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Astımlı olan veya olmayan yetişkin obez hastalar, obez, astımı olmayan kontrol grubu, erken başlangıçlı OA (EbOA) ve geç başlangıçlı OA (GbOA) grubu olmak üzere üç alt gruba ayrılmışlardır. Periferik kan örneklerinde; CD3-CD56⁺ NK hücreleri, CD3-CD56^{soluk} ve CD3-CD56^{parlak} NK hücre alt kümeleri, NK sitotoksitesi, NK aktivitesi, hücre içi IFN- γ , IL-10, IL-13, IL-17 düzeyleri ve NK reseptörleri (NKG2D, NKp46i, NKp44) akan hücre ölçer ile değerlendirilmiştir. IL-12 ve IL-23 stimülasyonunun etkisi incelenmiştir.

Astımı olmayan obez (n=5), EbOA (n=5) ve GbOA (n=8) olan hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmamızda VKİ ve NK aktivite belirteci CD69 arasında negatif korelasyon saptanmıştır (p=0,022, r=-0,534). NKG2D reseptörü astım popülasyonunun CD56^{soluk} hücrelerinde anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur (p=0,046). NKp44 reseptör ekspresyonu, EbOA ve kontrol grubunda IL-12 stimülasyonundan sonra artış göstermiştir (p=0,02). Hücre içi IL-10 içeriği GbOA ve kontrol grubunda artmıştır (p=0,018, p=0,03). GbOA hastalarında, EbOA grubuna göre azalmış NK sitotoksitesi saptanmıştır (p=0,05).

Çalışmamız, OA hastalarında bozulmuş bir NK reseptör ekspresyonu, NK aktivasyonu ve azalmış NK sitotoksitesi olabileceğini, ayrıca bu bulguların OA alt tiplerine göre değiştiğini göstermektedir. Verilerimizin, OA'da steroid direnci ve sık alevlenmelerini açıklamak için yapılacak geniş kapsamlı çalışmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Astım, Doğal Öldürücü Hücreler, Obezite, Vücut Kitle İndeksi, Sitotoksite

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 49482

ABSTRACT

Pur-Ozyigit, L. (2020). Obesity-related Asthma Pathogenesis; Body Mass Index and Natural Killer cells subgroups. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Immunology. PhD Thesis, Istanbul. 2020.

Obese asthma (OA) is an important research subject due to its increasing incidence and lack of specific treatment options. Natural Killer (NK) cells' roles are uncertain in OA pathogenesis. In this study, we aimed to explore the impact of NK cells in different subgroups of OA.

Adult obese patients have been assessed within one of three groups: obese non-asthmatics, early onset OA (EoOA) and late onset OA (LoOA) group. Percentages of CD3-CD56⁺ total NK cells, CD3-CD56^{dim} and CD3-CD56^{bright} NK cell subsets, NK cytotoxicity (CD107a expression), NK activity (CD69), intracellular IFN- γ , IL-10, IL-13, IL-17 levels and NK receptors (NKG2D, NKp46i, NKp44) have been investigated in peripheral blood samples by flow cytometry. The effect of IL-12 and IL-23 stimulation has also been analysed.

Obese non-asthmatics (n=5), EoOA (n=5) and LoOA (n=8) patients have been included in the study. BMI has been found to be negatively correlated with CD69, NK activity marker, (p=0.022, r=-0.534). NKG2D receptor has been significantly low in CD56^{dim} cells of asthma population (p=0.046). NKp44 receptor expression has significantly increased after IL-12 stimulation in EoOA and control groups (p=0.02). Intracellular IL-10 content has increased in LoOA and control subjects (p=0.018, p=0.03). LoOA patients showed a decreased NK cytotoxicity comparing to the EoOA (p=0.05). Our study suggests an impaired NK receptor expression, activation and reduced cytotoxicity in OA patients together with variances between different subtypes of this phenotype. This data would be beneficial for shedding light to new studies to explain steroid resistance and frequent exacerbations in OA.

Keywords: Asthma, Natural Killer Cells, Obesity, Body Mass, Index, Cytotoxicity

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No. 49482

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Astım, sık görülen, kronik, tıkayıcı, enflamatuvar ve heterojen bir solunum sistemi hastalığıdır [1]. Astımda nefes darlığı, hırıltı ve öksürük gibi klinik belirtiler ve hava yolu kısıtlılığı değişken ve geri dönüşümlü olsa da, enflamasyonun sürekli devam ettiği, bazı olgularda kalıcı yapısal değişikliklere sebep olduğu bilinmektedir [1, 2].

Günümüzde astım; oluşumuna neden olan genetik, çevresel faktörler ve altta yatan farklı immünolojik yollar nedeniyle heterojen bir hastalık, hatta bir sendrom olarak kabul edilmektedir [3]. Eskiden, duyarlanma sürecini takip eden edinsel immünitenin sebep olduğu allerjik bir hastalık olduğu düşünülürken, günümüzde hastalığın heterojen yapısı nedeniyle tüm patogenezi edinsel immünite ve yardımcı T2 tip (T helper 2- Th2) hücreler ile açıklamanın mümkün olmadığı anlaşılmıştır [4]. Farklı astım fenotipleri belirlenirken doğal immünitenin astımdaki yeri giderek önem kazanmaya başlamıştır. Doğal öldürücü (Natural Killer - NK) hücreler doğal savunmanın başlıca hücreleridir. NK hücreleri, diğer doğal immünite elemanları gibi, duyarlanma safhasından bağımsız olarak sitotoksikite ve sitokin salınımı fonksiyonlarını yerine getirirler [4]. Enfeksiyon hastalıklarında ve kanserde büyük öneme sahip olan bu hücreler, allerjik olmayan, geç başlangıçlı astım hastalarında, güncel bir araştırma konusudur [4].

Astım hastaları, farklı genetik ve çevresel etkenler, patolojik yollar ve tedavi şekilleri nedeniyle artık fenotip çerçevesinde incelenmektedir. Erken başlangıçlı allerjik astım, egzersize bağlı astım, mesleki astım ve obezite ilişkili astım en sık bilinen astım fenotiplerine örnek oluşturur. Astımda, özellikle yakın dönemde, klasik inhaler tedavilerin yetersiz kaldığı durumlarda kullanılan hedefe yönelik moleküler tedavi seçenekleri ile önemli klinik başarılar kazanılması farklı fenotiplerin patobiyolojik yollarının anlaşılmasına olan acil ihtiyacı bir kez daha gündeme getirmiştir.

Modern beslenme ve sedanter yaşama alışkanlıkları ile dünya genelinde obezite prevalansında belirgin artış olmuştur. Obezite ve metabolik sendrom sıklığıyla birlikte astım insidansındaki artış da devam etmektedir. Günümüzde sıklığı giderek artan obezite ilişkili astım, genellikle bulguların daha şiddetli yaşandığı, obezite ile ilişkili komorbiditelerin bulunduğu, klasik astım tedavisi ile kontrol altına alınması zor,

metabolik ve immün dengesizlikler ile klinisyenler için zorlayıcı bir fenotip olması nedeniyle önemli bir araştırma alanıdır [5, 6].

Çalışmamızda obezite ilişkili astım hastalarının; olası alt tipleri, hastalığın başlangıç zamanına ve tip 2 allerjik immün yanıt varlığına göre sınıflanmış ve bu sınıflama içinde doğal immünitinin öncü elemanlarında olan NK hücrelerin yüzde oranlarının, yüzey belirteçleri ve sitokin içeriklerine göre hücre alt gruplarının, ayrıca sitotoksik kapasitelerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır [4, 1]. Elde edilen bulguların obezite ilişkili astım patogenezinin ve ileride bu tedavisi zor alt grupta kullanılabilecek olası moleküler tedavi ajanlarına ışık tutacağı düşünülmektedir.

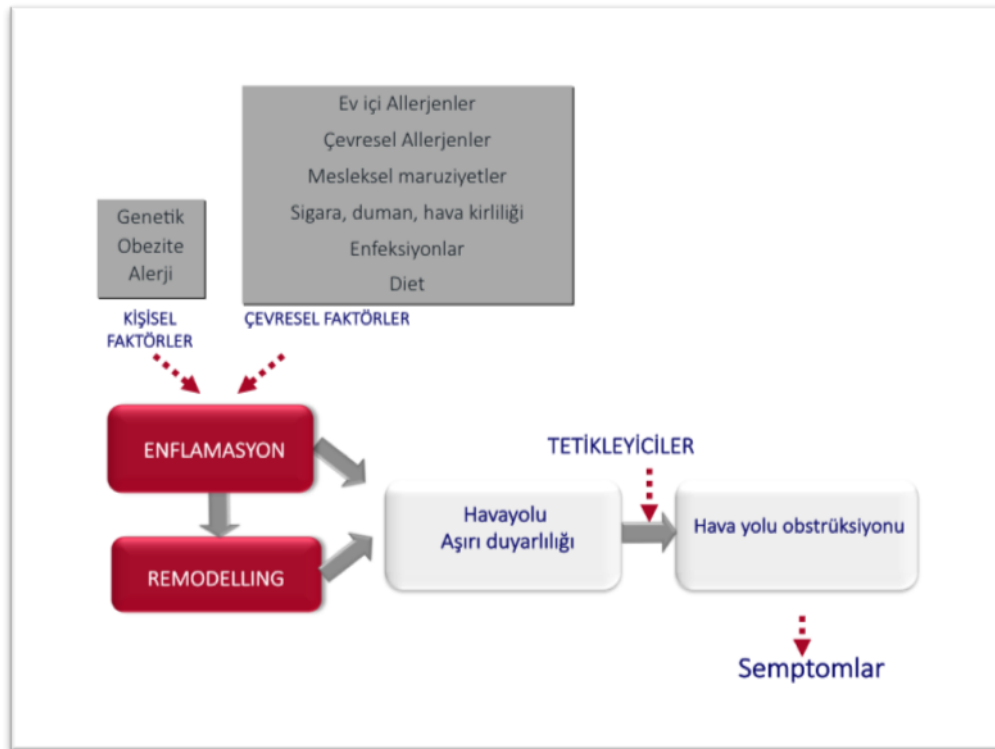


2. GENEL BİLGİLER

2.1. Astım

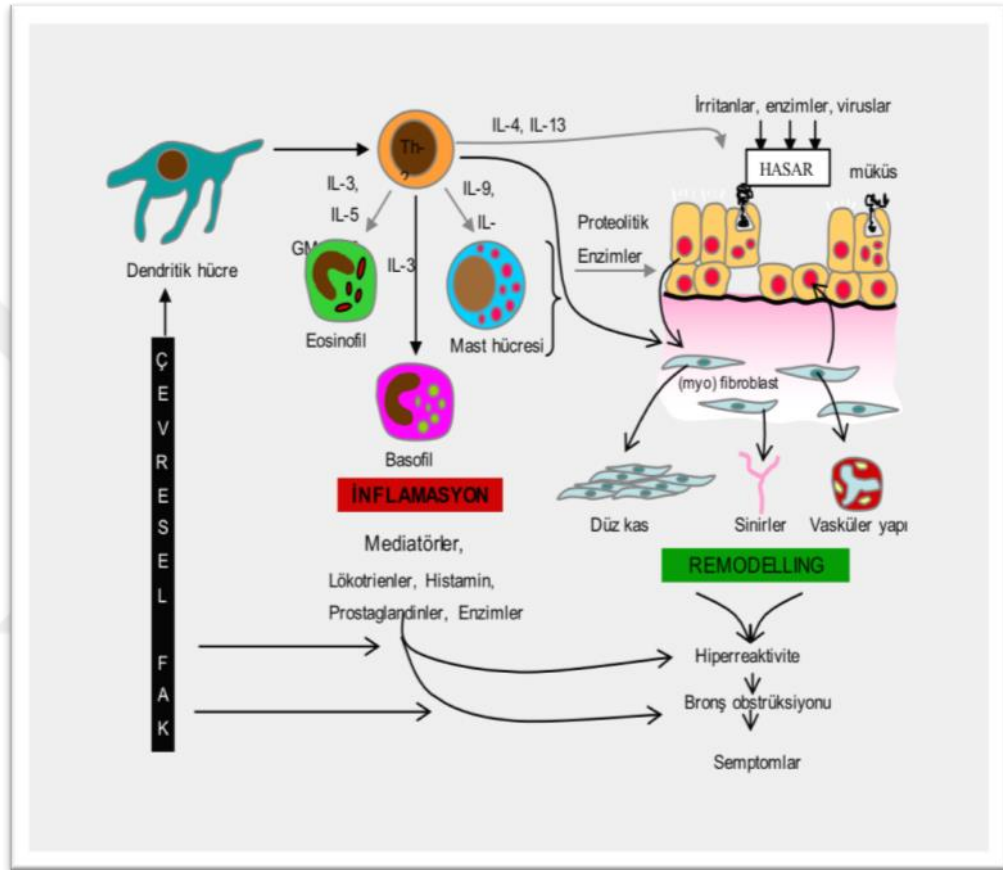
Astım, havayollarının aşırı duyarlılığı ile ilişkili, öksürük, nefes darlığı, hırıltılı solunum gibi yakınmalarla seyreden kronik enflamatuvar bir akciğer hastalığıdır [1]. Astımın değişik fenotipleriyle birlikte dünyada yaklaşık 300 milyon kişiyi etkilediği, 2025 yılında ise mevcut hastalara 100 milyon yeni astımlının ekleneceği ön görülmektedir [2, 1, 5]. Ülkemizde astım prevalansı, erişkinlerde kırsal ve kentsel farklı bölgeler gözetildiğinde % 2-17 arasında değişiklik göstermektedir [6-9, 5]. Yüksek sıklığının yanında, okul ve iş gücü kaybı nedeniyle sosyal, ekonomik ve yaşam kalitesi üzerindeki etkisiyle psikolojik olarak kişiye ve topluma maaliyeti yüksek olan bir hastalıktır [2]. Ayrıca günümüzde, artan hava kirliliği, küresel ısınma, endüstrileşme ve yapılaşma gibi etkenlerin astım sıklığına ve şiddetine etkisinden endişe edilmektedir [10].

Astımın ortaya çıkmasında kişisel ve çevresel etkenler rol almaktadır [11, 1]. Çevresel etkenler arasında, allerjenler, sigara, hava kirliliği ve diyet sayılabilir. Kişinin genetik yapısı ve epigenetik değişiklikleri yanında obezite de tek başına astım riski ve prognozunda etkili bir faktördür (Şekil 2-1).



Şekil 2-1: Astım oluşumu [2]

Astım patogenezinde aralıklı semptomlara rağmen sürekli devam eden tüm bronş ve bronşioalleri etkileyen, epitel, submukozal bezler, subepitelyal lamina retikularis, hava yolu düz kasları, nöronal ağlar ve enflamatuvar hücreler ile şekillenen kronik bir hava yolu enflamasyonu mevcuttur [12, 13].



Şekil 2-2: Allerjik astım patogenezi [2]

Tek tip, reversibl, kronik bir obstrüktif akciğer hastalığı olarak düşünülen astımın farklı yollarla oluşabileceği düşüncesi, ilk kez 1947’de ekstrensek yani dış etkenlere bağlı, atopik alt tip ve intrinsek, içten gelen, allerjik olmayan alt tip olarak ikiye ayrılması ile şekillenmeye başlamıştır [14]. Günümüzde ise astım, heterojen bir hastalık olarak kabul edilmektedir. Astım hastaları, uygun takip, tedavi ve prognozün öngörülebilmesi amacıyla klinik, fizyolojik, immünolojik ve patolojik parametreler aracılığı ile farklı astım fenotiplerine ayrılmaktadır [15, 16]. Astım sınıflamasında bir diğer kavram ise, klinik yansımaların dahil edilmediği, genetik ve immünolojik

mekanizmalar ile şekillenen endotip kavramıdır [17]. Fenotip kavramından farklı olarak, astım endotipleri, genetik ve moleküler özellikleri ile birbirinden ayrılmakta ve kısmen daha az değişken bir seyir izlemektedirler [18].

Yardımcı T lenfositlerinin, 1986 yılında, sitokin profillerine göre iki ayrı alt tipe ayrılması ile edinsel immünite ile ilgili bakış açısı değişmiş, bu yaklaşım günümüzdeki astım alt tiplerinin şekillenmesinde de rol oynamıştır [19, 20]. Tip 1 (Th1) ve tip 2 yardımcı T lenfosit (Th2) yanıtı modeli, CD4+ T hücrelerinin alt popülasyonlarının aracılık ettiği immün cevapları tarif etmektedir. Th1 tip hücreler interlekin (IL)-2, interferon gamma (IFN- γ) ve lenfotoksin alfa salınımı ile hücre içi patojenlere karşı defansı yönetirler [21]. Th2 tip hücreler ise IL-4, IL-5, IL-9 ve IL-13 üreterek, helmintler ve hücre dışı bakterilere karşı oluşan enflamatuvar süreçte kilit rol oynarlar [21, 20].

Havayollarının tip 2 immün cevabı, IL-4, IL-5, IL-9 ve IL-13 gibi Th2 tip hücrelerden salgılanan sitokinler ile tetiklenen, eozinofiller, mast hücreleri, Th2 hücreler, grup 2 doğal lenfoid hücreler (innate lymphoid cell 2 - ILC2) ve immünglobülin (Ig) E üreten B hücrelerin yer aldığı, aeroallerjenlere karşı bir aşırı duyarlılık reaksiyonudur. Bu yolak, temel olarak ‘yüksek tip 2’ astım endotipini belirlemekte olup, en ayırıcı klinik niteliği, kortikosteroid tedavilerine yanıtı olmasıdır [22]. Allerjik astım ve eozinofilik astım bu grubun alttipleri arasında sayılmaktadır. Kortikosteroidlerin yan etkileri ve bazı şiddetli olgularda etkilerinin istenen düzeyde olmaması nedeniyle, anti IgE, anti IL-5, anti IL-4, anti IL-13 gibi özgün monoklonal tedavi yöntemleri bu grupta kullanılabilir diğer tedavi seçenekleridir.

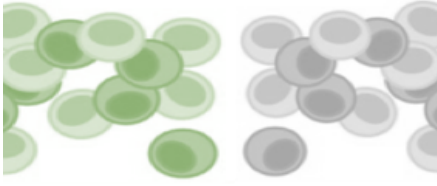
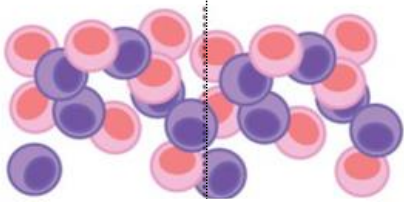
İkinci alt tip ise ‘düşük tip 2’ astım olarak sınıflanmaktadır. Nötrofilik astım, pauci-granülositik astım, obezite ilişkili astım, Th17 ilişkili astım yine bu grubun içinde sayılabilecek farklı endotip ve fenotiplerdir. Th17 hücreleri, IL-17A, IL-17F, IL-21 ve IL-22 üreten ve ağır astımlıların bronş biyopsilerinde bulunan hücrelerdir [23]. ‘Düşük tip 2’ astımda havayollarında ve periferik kandaki IL-17 düzeyi, havayolu hiperreaktivitesi, mukus hipersekresyonu, havayolu obstrüksiyonu ve kortikosteroid direnci ile korrelasyon göstermektedir [24-26]. ‘Yüksek tip 2’ astımda görülen steroid cevaplılığı bu endotipte bulunmamaktadır. Ayrıca, yine allerjik ve eozinofilik alttiplerin ağır formlarında kullanılan monoklonal tedavi seçenekleri bu grupta mevcut değildir [25]. Yine yüksek tip 2 astımının aksine bu grubun ayrımı için bir biyobelirteç de tespit

edilmemiştir. Tüm bu nedenlerle araştırmaya açık, güncel ve merak edilen bir konu olmaya devam etmektedir [27].

Astım, endotipik ve fenotipik sınıflamasının yanında, Avrupa ve Amerika Solunum Cemiyetlerinin de önerileriyle birlikte, 2010 yılından itibaren klinik kontrol kavramına göre de sınıflandırılmaktadır [28]. Bu sınıflama sübjektif hasta yakınmalarını temel almaktadır. Astımda yakın kontrolünün değerlendirilmesinde farklı yöntemlerden biri kullanılarak astımlı hastada yakınmaların kontrol altında olup olmadığına karar verilir [2]. Bu karar hastanın takibi ve tedavi düzenlenmesi açısından önemlidir. GINA kılavuzu tarafından önerilen semptom kontrol kriterleri Tablo 2-1’de özetlenmiştir [1].

Tablo 2-1: Astımda kontrol değerlendirmesi [1]

<i>Astım semptom kontrolü</i> <i>Son 4 haftada hastanın semptomları</i>	İyi kontrol	Yetersiz kontrol	Kötü kontrol
<i>Haftada ikiden fazla gündüz semptomu</i>	Bunlardan hiç birinin olmaması	Bunlardan 1 ya da 2’sinin olması	Bunlardan 3 ya da 4’ünün olması
<i>Astım nedeniyle herhangi bir gece uyanma</i>			
<i>Kurtarıcı ilaca haftada ikiden fazla gereksinim duyma</i>			
<i>Astım nedeniyle herhangi bir aktivite kısıtlaması</i>			

Kortikosteroide yanıtsızlık	Kortikosteroide iyi yanıt	Kortikosteroide yanıtsızlık
 Nötrofiller, T_H17 (?), ILC₃ (?) IL-17 Nötrofilik astım, Obezite ilişkili astım	 Eozinofiller ve monositler IL-5, IL-4, IL-10, IL-13 Allerjik astım, Eozinofilik astım	
Düşük tip 2	Yüksek tip 2	

Şekil 2-3: Tip 2 enflamasyon ve astım endotipleri[27]

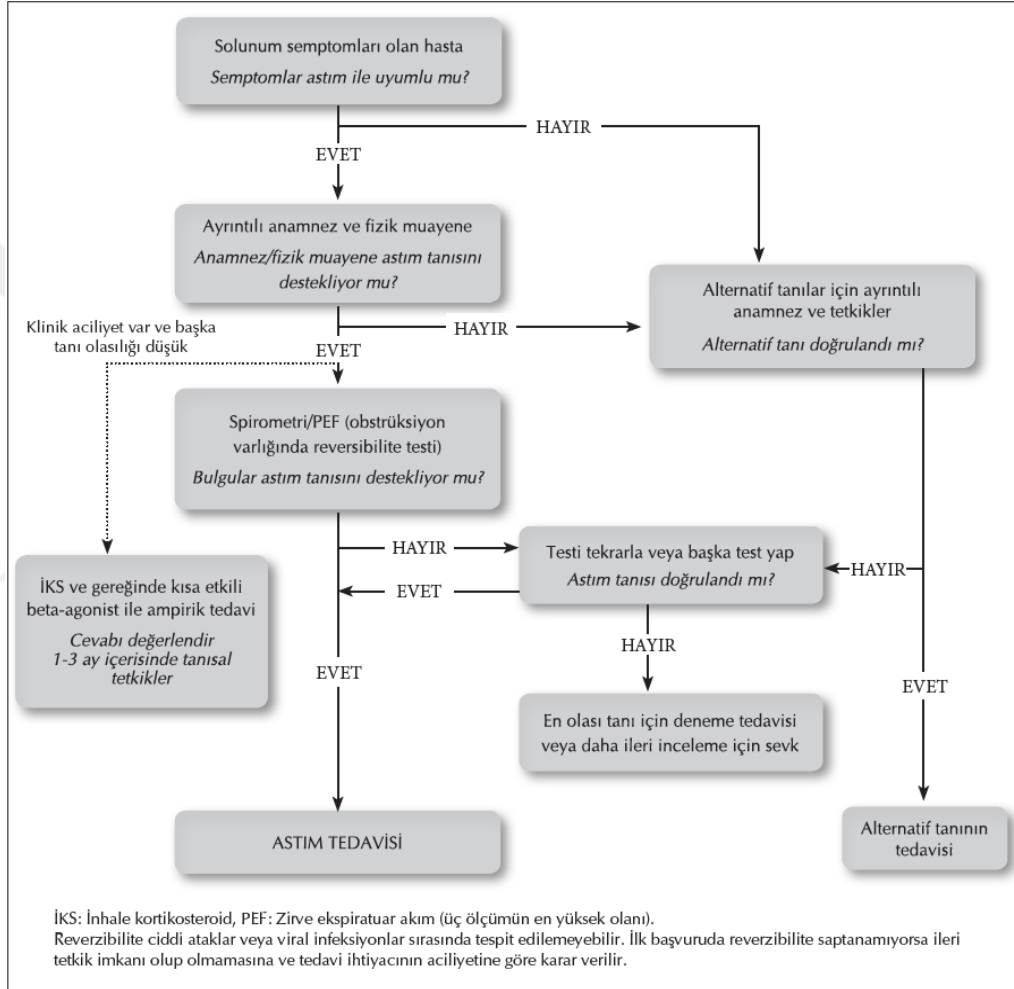
2.1.1 Astım tanısı

Astım tanısının temelinde hastanın öyküsü ve solunum fonksiyonlarındaki reversibilitenin gösterilmesi esas alınır. Kişide, astım düşünülmesi için, öncelikle şiddeti zaman içerisinde değişiklik gösteren, inhaler tedavilerle ya da kendiliğinden kaybolabilen yakınmaları olması gereklidir. Bunlar; nefes darlığı, hırıltı, öksürük, göğüste sıkışma ve ötme hissi gibi semptomlardır. Hastanın başvuru sırasında, herhangi bir şikayeti yoksa, fizik muayene sırasında herhangi bir bulgu tespit edilmeyebilir. Astımın reversibilitesi nedeniyle, solunum sistemi değerlendirilmesi sırasında, hava yolu obstrüksiyonuna ait bir bulgu tespit edilmemiş olması astım tanısını dışlamamaktadır [2]. Ancak bazı durumlarda, astım komorbiditelerinin muayene bulguları farkedilebilir. Nazal polipozis, atopik dermatit, obezite gibi bulgular tanının doğrulanmasında veya astımın sınıflandırılmasında yardımcı olabilir.

Solunum fonksiyon testleri, değişken hava akımı kısıtlanmasının şiddetinin ve varlığının tespitinde yardımcı olmaktadır. Solunum fonksiyon testi bulgularının normal olması da astım tanısını ekarte ettirmemektedir. Ancak, bronkodilatör bir tedavi sonrasında fonksiyonlarda kısmi düzelme astım tanısını desteklemektedir.

Solunum semptomlarının ve fizik muayene bulgularının astımla uyumlu olduğu durumlarda, solunum fonksiyon testleri astım tanısını doğrulaması dahi, 1-3 ay boyunca deneme tedavisi verilerek sonrasında ileri testler için hasta kontrole çağrılabilir [2, 1].

Allerjinin değerlendirilmesi, fenotip belirlenmesinde ve risk faktörlerinin ayırt edilmesine yardımcı olabilir.



Şekil 2-4: Astım tanısal yaklaşım algoritması [2, 1]

2.1.2 Astım tedavisi

Astım tedavisinin amacı, yakınmaların en iyi şekilde kontrol altına alınması, kişinin günlük aktivitelerine astım nedeniyle bir kısıtlama olmadan devam edilebilmesi, ayrıca astım ataklarının olmamasıdır. Tedavi aynı zamanda astımın

reversibilitesini kaybederek, remodelling olarak da isimlendirilen persistan hava akımı kısıtlanması ile komplike olması ve ilaç yan etkileri gibi riskleri azaltmaktır.

Tedavinin başarısında hastanın, sigara ve hava kirliliği gibi genel, ayrıca allerjenler gibi kendisine özel tetikleyicilerden uzak kalması, hasta-hekim işbirliği, hastanın tedaviye uyumu ve inhaler ilaçların doğru kullanılması çok önemlidir. Hastada; aktivite, uyku, günlük yaşam sırasında optimal kontrolün kazanılacağı en etkin ama en düşük doz tedavi uygulanır. Önce üç ay, sonra yıllık aralıklarla yapılan takipte hastanın değişen sağlık durumu, yakınmaları, yaşam koşulları ile tedavi düzenlenir. Tedavi şemasında bir basamak sistemi kullanılmaktadır [2, 1]. İnhal kortikosteroid tedavisi, enflamasyon ve kontrol üzerindeki etkisi ile astım tedavisinin temelini oluşturmaktadır. Bu tedavinin uygun ve düzenli kullanılmasına rağmen, istenen hedefe ulaşılamadığında, basamak çıkılır, doz artırılır, semptom giderici olarak uzun etkili inhale beta agonist tedavisi eklenir, komorbiditeler değerlendirilir ve ayırıcı tanıdaki diğer hastalıklar gözden geçirilir. En son aşamada, hasta, sistemik steroid ve monoklonal tedavi seçeneklerinin değerlendirilmesi amacıyla, uzman bir merkeze yönlendirilir. Astım kontrolü sağlanan ve en az üç ay kontrolde olan hastanın tedavisinde basamak inilebilmektedir.

2.2 Obezite

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), obeziteyi, 21. yüzyılın en önemli sağlık tehditlerinden biri olarak göstermektedir [29, 30]. 1980'lerden itibaren, prevalansının üç katına çıkmasıyla kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve diyabet gelişimi için önemli bir risk faktörü olmanın dışında, psikososyal problemlere ve fiziksel engellere yol açmaktadır [30]. Son istatistiksel verilere bakıldığında, Avrupa Birliği ülkelerinde obezitenin erişkinlerin %10-30'unu etkilediği görülmektedir.

Obezite; tip 2 diyabet, hipertansiyon, dislipidemi, kalp ve damar hastalıkları, uyku apne, kanser gibi bir çok kronik morbiditenin sıklığını arttırmaktadır. Sağlık hizmeti harcamalarının, fazla kilolu ve obez kişilerde belirgin arttığı bilinmektedir [31].

DSÖ tarafından obeziteyi tanımaya ve tanımlamaya yönelik bir indeks geliştirilmiştir. Vücut kitle indeksi (VKİ) olarak adlandırılan bu sayı, hastaların kilogram biriminden ağırlıklarının, metre biriminden boy uzunluklarının karesine bölünmesiyle hesaplanmaktadır. VKİ sınıflaması kardiyovasküler hastalık riski temel

alınarak yapılmaktadır [32]. VKİ'nin 30 kg/m² ve üstünde olması obezite olarak tanımlamaktadır (Tablo 2-2).

Tablo 2-2: Obezite sınıflaması [29]

• Zayıf – <18.5 kg/m² • Normal – ≥18.5 to 24.9 kg/m² • Kilolu – ≥25.0 to 29.9 kg/m² • Obez – ≥30 kg/m² • Sınıf I – 30.0 to 34.9 kg/m² • Sınıf II – 35.0 to 39.9 kg/m² • Sınıf III – ≥40 kg/m² (morbid obezite, ciddi obezite)

Obeziteye sebep olan birçok faktör vardır. Başlıca diyetle ilgili obezite, endokrin obezite, sosyal ve davranışsal faktörler, sedanter yaşam tarzı ve genetik nedenler sayılabilir [33].

Obezite varlığında, kişinin genel sağlık risklerinin belirlenirken, obezitenin derecesi (VKİ ile), abdominal obezite (karın çevresi ölçümü ile), kardiyovasküler risk faktörlerinin, uyku apnesinin, karaciğer yağlanması, osteoartrit ve diğer obezite ilişkili risklerin değerlendirilmesinin yapılması önerilmektedir. Koroner kalp hastalığı, diğer aterosklerotik hastalıklar, tip 2 diyabet ve uyku apnesi dahil olmak üzere birçok hastalığın bir arada bulunması, hastaları mortalite açısından çok yüksek risk kategorisine sokmaktadır.

2.3 Obezitenin akciğer hastalıklarına etkisi

2.3.1 Fizyolojik etkiler

Obezite intrabdominal ve plevral basınçları arttırırken, aynı zamanda torasik volümün azalmasına yol açmaktadır [34]. Bu durum tidal volümü, fonksiyonel rezidüel kapasiteyi, total akciğer kapasitesini azaltırken, yine akciğer fonksiyon testlerinde; birinci saniyedeki zorlu soluk verme hacmi (forced expiratory volume in one second-FEV₁) ve zorlu vital kapasite (forced vital capacity - FVC)'nin azaldığı izlenmektedir. Morbid obezitenin akciğer

kompliyansını azalttığı da gösterilmiştir [35]. Tüm bu durumlar dinamik hiperenflasyona sebep olur ve oksijen parsiyel basıncı azaltır [34].

Kısıtlanmış hava akımının yanında, obezitenin havayolu aşırı duyarlılığına yol açıp açmadığı hala bir tartışma konusudur [36]. Düşük akciğer volümü ile nefes alan obez kişilerde, havayolu düz kas uzama kapasitesinde azalma ve havayolu aşırı duyarlılığı olabileceği düşünülmektedir [36].

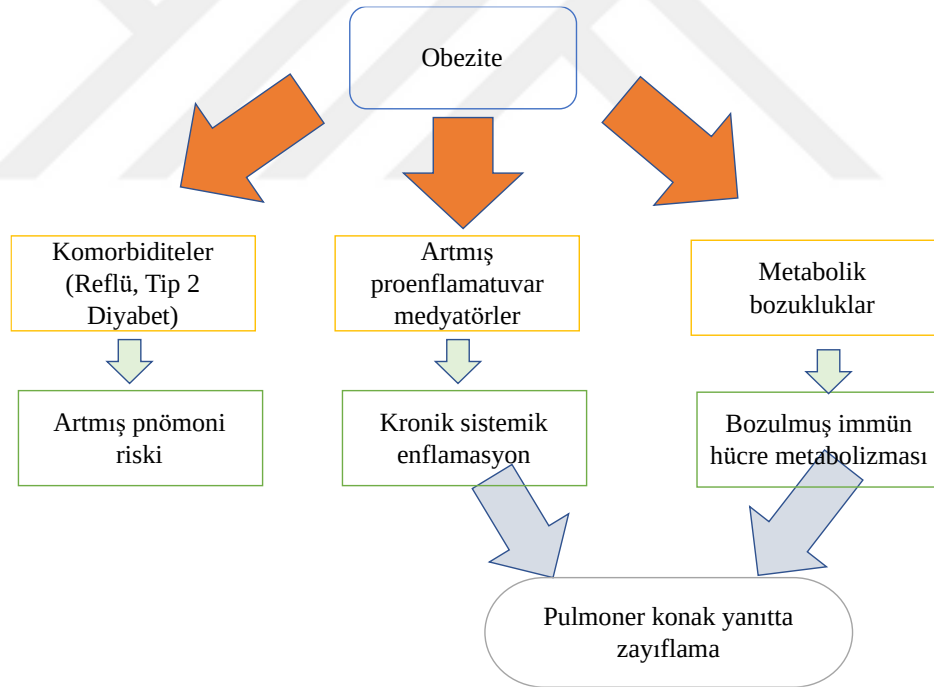
2.3.2 İmmünolojik etkiler

Obezite, glukoz ve lipid metabolizmasını değiştirmenin yanında, aynı zamanda immün sistem hücreleri üzerinde de belirgin etkisi olan bir kronik sistemik enflamatuvar durumdur (Tablo 2-3) [37-39]. Adipoz doku, makrofajlar ve diğer enflamatuvar hücreler ile infiltredir [40]. Adipoz doku makrofajları; M₁, klasik yol ile aktive olan makrofajlar ve M₂ alternatif yol ile aktive olan makrofajlar olarak iki temel alt grupta incelenmektedir [41]. Obezite varlığında, adipoz doku M₁ makrofaj sayısı artmakta, enflamasyon ve insülin direnci ile korrelasyon göstermektedir. Zayıf kişilerde ise M₂ makrofajlar sayıca baskındır ve adipoz doku homeostazisini sağlamak için anti-enflamatuvar sitokinler salgırlar [42, 43]. Obezite, T lenfositlerde IL-17 ekspresyonuna yol açmaktadır [44]. Mast hücreleri, kapiller damar çevrelerinde yer alırlar ve adipoz dokunun anjiogeneğinde rol oynarlar. Hatta mast hücre stabilizatörü olan ilaçların, farelerde obezite ve diyabeti azalttığı gösterilmiştir [45]. Eozinofillerin, farelerin beyaz adipoz dokularında IL-4 eksprese eden başlıca hücreler olduğu gösterilmiştir. Yüksek yağlı bir diyetle beslenen farelerde, eozinofillerin yokluğunda, insülin direncinin gelişmesine yatkınlık olmaktadır [46].

Tüm bu etkiler, akciğer hastalıklarında enflamasyonun artmasına, yetersiz defansa bağlı solunum yolu enfeksiyonlarının şiddetlenmesine, solunum yolu malinitelerinde tedavi direncine ve dolayısıyla akciğer hastalıklarının yetersiz kontrolüne sebep olmaktadır (Şekil 2-5) [40].

Tablo 2-3: Obezitenin insan lökosit fonksiyonları üzerine etkileri [40]

Hücre Tipi	Obezitenin etkisi
<i>Polimorf nüveli lökositler</i>	Fagositoz ve reaktif oksijen radikallerinde artış, defektif bakteri ölümü [47]
<i>Makrofaj / monositler</i>	Fagositoz ve reaktif oksijen radikallerinde artış, proenflamatuvar sitokin üretimi [48]
<i>CD4⁺ T lenfositler</i>	T _H 1 polarizasyonu [49]
<i>CD4⁺ T lenfositler</i>	Mitojen aktivasyonuna azalmış proliferatif cevap [47]
<i>B Lenfositler</i>	Mitojen aktivasyonuna azalmış proliferasyon [47]
<i>NK hücreler</i>	Bozulmuş sitotoksik aktivite [50, 51]



Şekil 2-5: Obezite ilişkisi pulmoner konak yanıtta bozulma [40]

2.3.3 Obezite ve astım ilişkisi

Obezite ve astım, dünyada artan prevelansı ile endişe yaratan iki epidemik hastalık olarak hem erişkinleri hem de pediatrik popülasyonu tehlike altına almaktadır [52-54]. Günümüzde, astımın şiddetinin, astım ile ilişkili medikal ekonomik yükün, acil başvurularının ve astım morbiditesinin arttığı bilinmektedir [53, 54]. Astım ve obezite prevelansındaki bu artış doğrultusunda ikisinin arasındaki ilişki sorgulanmaktadır.

Obezite ile astımın bağlantılı olabileceği ilk kez 1999'da düşünülmüştür [55]. On sekiz yaşında VKİ yüksek olan ya da 18 yaşından sonra anlamlı kilo alan kadınlarda dört yıl içinde astım gelişme riskinin arttığı, VKİ 30'dan yüksek olan kadınlarda ise astımın 2,5 kat daha sık görüldüğü tespit edilmiştir. Bu araştırmanın sonuçları uzun yıllar tartışılmış, aynı zamanda obezite ve astım sıklığı artarak devam etmiştir [56]. Obezite günümüzde hem astım gelişimi için önemli bir risk faktörü, hem de astımı kötüleştiren bir etken olarak görülmektedir [57]. Obez kişilerde astım gelişme riskinin 1.92 kat arttığı belirlenmiş, ayrıca VKİ ile astım gelişimi arasında pozitif yönde bir korrelasyon olduğu gösterilmiştir [58, 59]. Dislipidemi, gastroözefageal reflü, uyku ile ilişkili solunum problemleri, tip 2 diyabet ve hipertansiyon gibi obezite komorbiditeleri de aynı şekilde astıma yatkınlık hazırlayabilmekte ya da astımı kötüleştirebilmektedir [60]. Tüm bunlara ilave olarak astım ve obezitenin ortak genetik özellikler, *in utero* koşullar ve benzer yaşamsal ve beslenme ile ilgili faktörler nedenleriyle etiyolojik benzerlikleri de bilinmektedir.

Obezite ve astımın sebepsel ilişkisinde bazı beslenme alışkanlıklarının etkili olduğu düşünülmektedir. Obeziteye sebep olan batılı tarzı, doymuş yağ asitlerinden zengin, lif ve antioksidandan fakir diyetin astımı kötüleştirdiği ile ilgili yeni hayvan çalışmaları yayınlanmaktadır [61, 62]. İnsanda da tüketilen yağdan zengin tek bir öğünün, nötrofilik havayolu enflamasyonunu arttırdığı ve bronkodilatatör ilaçlara cevabı azalttığı gösterilmiştir [63]. Obezogenik diyetin, kısa zincirli yağ asitlerinden özellikle propiyonatın düzeyini azaltarak gastrointestinal sistem mikrobiyomunun yapısını değiştirdiği ve allerjik hava yolu enflamasyonuna sebep olduğu düşünülmektedir [64, 65].

Akciğer fonksiyonlarındaki fizyolojik farklılıklar yanında, obezite ile astımın asıl ilişkisinin immünolojik yollar aracılığı ile olduğu bilinmektedir.

Obezite, soluk alma ve verme sırasında, enerji harcamasını ve dolayısıyla solunumsal talebi arttıran bir durumdur. Obezite ilişkili enflamatuvar sitokinler [tümör nekroz faktörü- α (TNF- α), leptin] ve hormonlar (insülin) havayolu düz kaslarının kontraktilitesini arttırmaktadırlar [66]. Adipositler ile tetiklenen proenflamatuvar aktivite obezitede kronik enflamatuvar bir duruma sebep olmaktadır [60]. Bu durum makrofajlarda M₁ yönünde aktivasyona, regülatuvar T lenfosit ve Th17 oranında değişikliğe sebep olmaktadır. Adipoz dokuda M₁ makrofaj polarizasyonu, TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-15 ve IL-23 gibi proenflamatuvar sitokinlerin artışına yol açar [67]. IL-6 ve TNF- α , Th17 hücre farklılaşması için önemli bir uyaranlardır. Obezite varlığında Th17 hücrelerinde artış görülmektedir [68]. Th17 hücreleri IL-17 salınımı ile nötrofil göçüne, proliferasyonuna ve nötrofillerden salınan proenflamatuvar sitokinlerin (IL-6, IL-8), kemokinlerin, adezyon moleküllerinin artışına neden olur [68]. IL-17'nin ayrıca, fibroblast aracılı enflamatuvar medyatörlerin ve dolayısı ile hava yolu remodellingini arttırıcı etkisi de mevcuttur. [68]. Leptin ve insülinin, regülatuvar T hücreleri ve onlardan salınan IL-10 üzerinde inhibitör etkisi bilinmektedir. Bu etki, obezite astımında bu hücrelerin sorumlu olduğu enflamasyonun kontrolünde yetersizliğe yol açmaktadır [69, 70].

Obezite ve astım birlikteliğini inceleyen birçok immünolojik ve fizyolojik patogeneze çalışmasının yanında, obez hastaların astım kontrollerinin yetersiz, astım nedenli hastaneye yatış sayılarının yüksek, standart tedavi yanıtlarının normal kilolu astımlılara kıyasla kötü olduğunu gösteren epidemiyolojik araştırmalar da yayınlanmıştır [71, 72, 59, 73, 74]. Tüm bu bilgiler ışığında, obezite astımı farklı bir fenotip olarak ele alınmaya başlanmıştır [1]. Birçok çalışma obezite ilişkili astımı daha az atopik olarak saptarken [67], atopiye neden olduğunu gösteren araştırmalar da mevcuttur [75, 76]. Bilimsel verilerdeki bu çelişkiler ve belirgin kilo verilmesiyle gerileyen ya da gerilemeyen iki ayrı grup olduğu hipotezi ile obezite astımı, astımın başlangıç zamanına göre iki ayrı alt tipe ayrılmıştır [77-79]. Erken başlangıçlı obezite ilişkili astım, genellikle yüksek tip 2 fenotipine uygun bir astım grubu olarak tanımlanmıştır [79]. Diğer grup ise, geç başlangıçlı obezite ilişkili astım, havayolu enflamasyonunun az olduğu, ancak adipoz dokuda ciddi enflamasyon ve oksidatif stres saptanan, genellikle kadın hastalardan oluşan bir gruptur,

periferik hava yollarında elastans ve kapanma artmıştır [80]. Yaş ve obezite derecesinin geç başlangıçlı astımda önemi, bir fare çalışması ile desteklenmiştir [81]. Yüksek kalorili diyet ile beslenen 20-22 haftalık farelerde hava yolu aşırı duyarlılığı gelişmezken, aynı diyet ile beslenmiş 30-38 haftalık farelerde geliştiği gösterilmiştir. Geç başlangıçlı astım için yaş sınırı kesin olarak belirlenmemiş olsa da, birçok yayında 12 yaştan sonra gelişen astımın bu grupta incelendiği görülmektedir [82, 83]. Bu iki temel alt tipe ilave olarak, bazı yazarlar, yine kadınlarda nötrofilik hava yolu enflamasyonu ile seyreden ve kilo verilmesiyle düzelen üçüncü bir obezite astımı fenotipi de tanımlamışlardır [84]. Bu son grupta özellikle fare modellerinde, hava kirliliği, kimyasal temizleyiciler, kokular gibi iritan etkenlere aşırı hassasiyet de gösterilmiştir. Bu durumun, gerçekten üçüncü bir alt grup ve ayrı bir reaktif hava yolu sendromu tipi mi yoksa, bütün obezite ilişkili astımlarda olan bir özellik mi olduğu henüz bilinmemektedir [85, 86]. Bu verilerle obezite ve astım ilişkisi üçlü bir Venn şeması olarak gösterilebilmektedir (Şekil 2-6) [57].



Şekil 2-6: Farklı obezite ilişkili astım fenotipleri [87]

2.4 Doğal Öldürücü Hücreler

Doğal Öldürücü (Natural Killer - NK) hücreler, hem hücre lizisi, hem de immünregülatuar sitokin üretimi kapasitesine sahip, doğal immün cevabın önemli bileşenleridir [88]. Periferik kan mononükleer hücrelerin %10-15'ini oluştururlar, periferik dokularda da bulunurlar, fenotipik olarak Cluster of Differentiation 56 (CD56) [53] ve CD16 yüzey belirteçlerinin varlığı ve CD3 T hücre yüzey belirtecinin yokluğu ile tanımlanırlar [89].

NK hücreleri, yüzeylerinde CD56 (nöral hücre adhezyon molekülü) antijeninin yoğunluğuna göre, fenotipik ve fonksiyonel olarak iki alt tipe ayrılmaktadır [90]. CD56 ekspresyonu, sadece NK hücreleri ile sınırlı değildir, gamma delta ($\gamma\delta$) T hücreleri ve aktive edilmiş CD8⁺ T hücreleri de dahil olmak üzere diğer lenfoid hücrelerde ve ayrıca dendritik hücrelerde de tespit edilmiştir. CD56 antijeninin, adezyonda, nöron büyümesinde, sinaps plastisitesinde, öğrenme ve hafızada rol oynadığı gösterilmiştir [91]. İnsan NK hücreleri çoğunlukla CD56 antijenini düşük yoğunlukta eksprese eden hücrelerdir. Bu hücreler, 'CD56_{soluk}' olarak adlandırılmaktadırlar. Yüzeylerinde yüksek derecede Fc γ reseptörü IIIA (Fc γ RIIIA, CD16) mevcuttur. Daha fazla farklılaşmış olduğu kabul edilen CD56_{soluk} NK hücreleri, yüksek miktarlarda perforin, granzim ve sitolitik granüller içerirler. Bu nedenle sitolitik kapasiteleri daha yüksektir [92].

NK hücrelerinin diğer bir alt tipi ise, olgunlaşmamış, CD56_{parlak}CD16_{soluk} NK hücreleridir. Sayıları çok daha azdır, IL-2 ile stimüle olurlar, ağırlıklı olarak insan periferik dokularında bulunurlar ve sitotoksik kapasiteleri daha düşüktür [93]. Ancak başta IFN- γ olmak üzere, TNF- α , granülosit-makrofaj koloni stimüle edici faktör (GM-CSF), IL-10 ve IL-13 gibi sitokinleri bol miktarda üretirler [94]. Ayrıca, CD56_{soluk} NK hücreleri genellikle akut enflamatuvar periferik bölgelerde bulunurken, CD56_{parlak} NK hücreleri kronik enflamatuvar bölgelere göç ederler [92, 95].

İnsan NK hücresi sitotoksik aktivitesi; majör histokompatibilite kompleks (major histocompatibility complex, MHC) sınıf I ve sınıf II benzeri molekülleri ve diğer ligandları tanıyan çok çeşitli aktivatör ve inhibitör reseptörler tarafından kontrol edilir ve bu reseptörler, NK hücrelerinin regülasyonuna katılır [96]. Bu reseptörler, killer immünoglobulin benzeri reseptörler (KIR), CD94 / NKG2 lektin benzeri reseptörler veya NKp30, NKp44 ve NKp46 içeren doğal sitotoksikite reseptörleri olarak sınıflandırılabilir [88]. NK hücrelerinin en güçlü aktivatör reseptörleri CD16, NKG2D

ve doğal sitotoksiste reseptörleri NKp30, NKp44 ve NKp46'dır [97]. NKp46 ve NKp30'un bütün periferik kan NK hücreleri tarafından eksprese edildiği, ancak diğer immün hücrelerde bulunmadığı gösterilmiştir [98, 99]. NK hücre reseptörleri, spesifik tedaviler için cazip potansiyel hedeflerdir ve bu nedenle, farklı hastalıklarda bu reseptörlerin rollerinin daha iyi tanımlanmasına ihtiyaç vardır. NKG2D, tüm olgun NK hücrelerinde ve NKT hücrelerinde aktivatör bir reseptördür [100, 101]. NKG2D reseptörü, insanlarda DNA hasarına tepki olarak indüklenen MHC sınıf I zincirine bağlı moleküller (MICA veya MICB) ve UL16 bağlayıcı protein ligandlarının bir reseptörüdür [102]. NKG2D tümör, greft reddi, ateroskleroz, otoimmünite, enfeksiyonda ve allerjik astımda rol oynamaktadır [102, 92, 95, 103].

NK hücreleri, CD56 ekspresyonu dışında, sitokin sekresyonuna göre de alt gruplara ayrılmıştır. *In vitro* ve *in vivo* çalışmalar, NK hücrelerinin, yardımcı T lenfositlere benzer şekilde, NK1, NK2, NK17, NK regülatör (NKreg) ve NK22 hücre tiplerine polarize olabildiğini göstermektedir [93]. IL-12 varlığında stimüle olan NK hücreleri (NK1) ağırlıklı olarak IFN- γ üretir, IL-4 varlığında stimüle olanlar ise (NK2) IL-5 ve IL-13 üretirler [104]. IL-10 ve TGF- β salgılayan NKreg hücreler transplant ve gebelik toleransını artırırlar [105-107]. Fenotipik olarak CD56+CCR4+ROR γ t+Tbet+IL-23R- şeklinde tanımlanan, IL17 ve IFN- γ üreten hücreler NK17 hücreleridir. İnsanda aktivasyon olmadan multipl sklerozlu [81] hastaların beyin omurilik sıvısında izole edilmişlerdir ve bu hastaların periferik kanından *in vitro* IL-2 aktivasyonu ile stimüle edilmişlerdir [108]. NK22 hücreleri ise romatoid artrit patogenezinde rol oynadığı düşünülen, IL-22 ve TNF- α üreten NK alt tipidir [109].

2.5 Doğal Lenfoid Hücreler

ILC son 10 yılda yoğun araştırmaların odağı olmuş, çeşitli dokulardaki immün yanıtlarda kilit oyuncular olarak ortaya çıkmışlardır [110]. Sitokin üretimi ve ana transkripsiyon faktörü ekspresyonu ile, T yardımcı T hücreleri ile uyumlu fonksiyonlar gösterebilirler de, yardımcı T hücrelerin aksine, ILC'ler antijene özgü reseptörleri eksprese etmez ve ortak hücre belirteçleri içermezler. Ancak alarminler ve sitokinler gibi hasar kaynaklı sinyallere cevap verir ve adaptif immün yanıtı şekillendirebilirler [111].

ILC'ler günümüzde üç grup altında incelenmektedir:

Grup 1 ILC'ler (ILC1), CD127'nin ekspresyonu olmayan ve olgun NK genetik yapısını içermeyen NK hücreleri ve NK olmayan ILC1'leri kapsamaktadır. IFN- γ ve

TNF- α üretirler. T-bet transkripsiyon faktörünü eksprese eder ve IL-12, IL-15 ve IL-18'e yanıt olarak, patojenlere ve tümör hücrelerine verilen immün cevaba aracılık ederler [112].

Grup 2 ILC'ler (ILC2), IL-4, IL-5, IL-13, IL-9 ve amphiregulin üretir. GATA3 ve ROR α transkripsiyon faktörlerini eksprese eder ve IL-25, timik stromal lenfopoietin (TSLP) ve IL-33'e cevap olarak parazitlere ve allerjenlere karşı tepkilere aracılık ederler [113].

Grup 3 ILC'ler (ILC3), insanlarda, NKp44'ün ekspresyonuna göre alt gruplara ayrılmıştır. IL-17 ve/veya IL-22 sitokinlerini üretirler. Özellikle intestinal seviyede IL-1 β ve IL-23'ye cevaben bakteriyel ve fungal enfeksiyonlara karşı mukozal immüniteye aracılık ederler [114].

2.6 Obezite Astımında Doğal İmmünite, Doğal Lenfoid Hücreler ve Doğal Öldürücü Hücreler

Obezite, uzun yıllardır kronik enflamatuvar yanıtla ilişkilendirilmiş olsa da; astımda obezite, diyetle yağ alımı ve değişen doğal immün yanıt arasındaki bağlantı son beş yıl içinde, ILC'lere olan merak ve ilginin artması sonrasında daha iyi tanımlanmıştır [39, 115]. Yüksek yağlı diyetle beslenen farelerde gelişen hava yolu aşırı duyarlılığının, doğal immünite ile ilişkili olduğu, edinsel immünite ile doğrudan bağlantılı olmadığı görülmüştür [115]. Bir diğer çalışmada, yine normal farelere kıyasla, yüksek yağlı diyetle beslenen obez farelerin akciğerlerinde artan sayıda ILC3 bulunmuştur [116]. Bu obez farelerde, edinsel bağışıklıktan bağımsız olan, allerjen maruziyeti olmamasına rağmen, ILC3 kaynaklı IL-17 ilişkili havayolu duyarlılığı ortaya çıkmıştır. Aynı çalışmada, obeziteye bağlı havayolu duyarlılığının, IL-17-/- farelerde azaldığı da gösterilmiştir. Başka bir araştırmada ise, aşırı yağlı diyetle ortaya çıkan obezite modelinin, ev tozu akarı ile tetiklenmesi ile, hava yolunda, allerjik enflamasyonunun, eozinofil infiltrasyonunun, Th2 ve Th17 sitokin profilinin ve sitokin salgılayan ILC2 ve ILC3'lerin arttığı gösterilmiştir [117].

ILC'lere kıyasla, astım ile ilişkisi daha uzun süre süredir araştırılan NK hücreleri ile ilgili ilk araştırmalarda astımlıların periferik kanında NK hücrelerinin sitotoksik aktivitesinin artmış olduğu gösterilmiştir [118, 119]. Daha yakın tarihli çalışmalarda ise, ağır astımlılarda NK hücre aktivatör reseptörü NKG2D ve aktivasyon belirteci olan CD69 antijeninin hafif astımlılara kıyasla daha yüksek düzeyde eksprese olduğu tespit

edilmiştir. Ağır astımlılarda periferik kandaki eozinofil sayısının da, NK sayısı ile, NK yüzeyindeki CD69 ve NKG2D ekspresyonu ile pozitif korrele olduğu saptanmıştır [120]. Fare modellerinde, allerjik sensitizasyon sonrası efektör faz sırasında mediastinal lenf nodlarında NK hücre ekspansiyonu görülmüştür [121]. Lenf nodlarındaki NK hücrelerinde, yüksek miktarda CD86 ekspresyonu görülmüş, bu durum, NK hücreleri ile CD4+ T hücreleri arasındaki iletişim ile ilgili olduğu şeklinde yorumlanmıştır. Efektör faz öncesinde NK deplesyonu, akciğerde eozinofil sayısında çok çarpıcı bir düşüşe neden olmuştur [121].

Obezite astımında, steroid tedavisinin etkisinin yetersiz olması, yeni monoklonal tedavi seçeneklerinin sınırlı olması ve doğal immüitenin öneminin anlaşılması sonrasında, NK hücrelerinin obezite astımındaki yerini irdeleyen insan çalışmaları da önem kazanmaktadır. Özellikle ağır astımda periferik kan NK hücrelerinde, sağlıklı kontrollere kıyasla, daha fazla sitotoksik mediatör salınmasına rağmen, K562 miyeloid hedef hücrelerin öldürülmesi yetersiz bulunmuştur [122]. *Ex vivo* deksametazon maruziyeti, NK hücrelerinden sitotoksik mediatör salınımını ve hedef hücrelerin NK hücreleri ile lizisini belirgin bir şekilde azaltmıştır. NK hücre fonksiyonunu devre dışı bırakan kortikosteroidler nedeniyle ortaya çıkan durumun şiddetli astımda kalıcı hava yolu enflamasyonuna katkıda bulunduğu düşünülmektedir [122]. Aynı şekilde obezitenin de, özellikle metabolik olarak sağlıklı erişkin ve çocuklarda NK hücre fonksiyonlarını bozduğu, serum IL-12 düzeyini azalttığı bildirilmiştir [123-125].

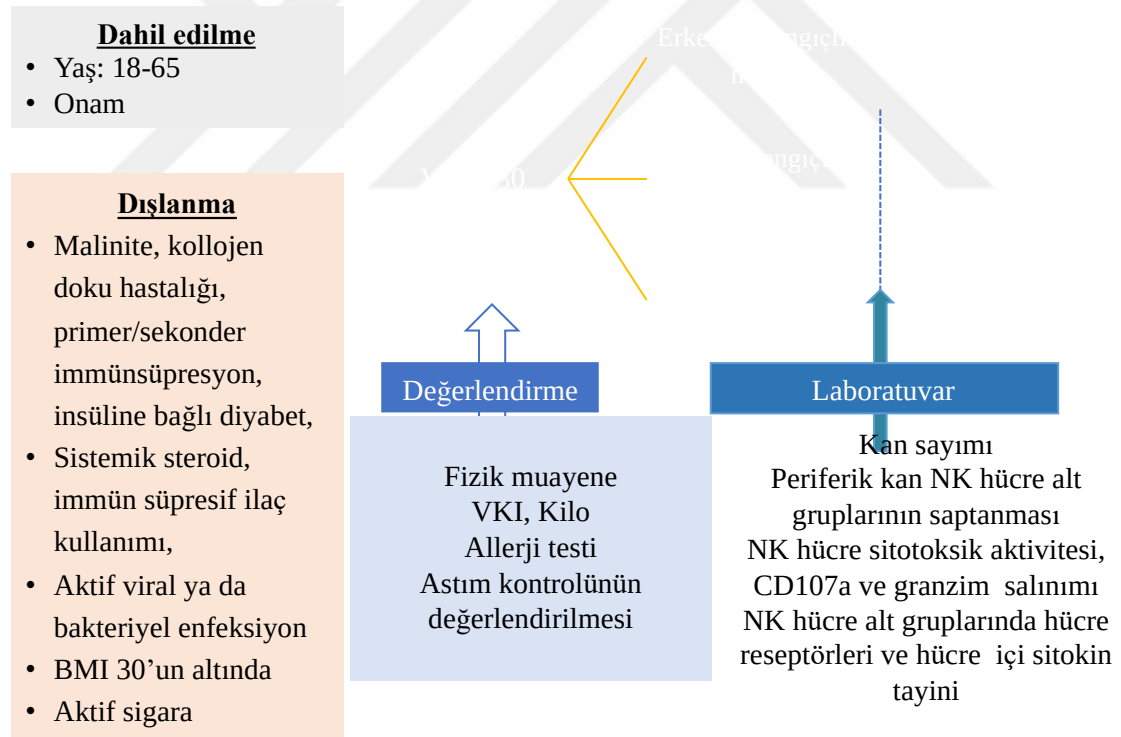
Tüm bu veriler ışığında, astım ve obezite epidemisinin yaşandığı ve kişiselleştirilmiş tedavinin önem kazandığı günümüzde, edinsel allerjik immün cevap için geliştirilen tedavi yöntemleri ile çare bulamadığımız farklı obezite ilişkili astım fenotiplerinde, doğal immüitenin en iyi tanımlanmış hücreleri olan NK hücrelerinin sayı ve fonksiyonlarını irdeleme ihtiyacı duyulmuştur. Çalışmamızda, erken başlangıçlı ve geç başlangıçlı obezite astımı hastalarının NK hücre oranları, NK hücre alt grupları ve bu hücrelerin hücre içi sitokin içerikleri ile sitotoksik aktivitelerinin saptanarak astımı olmayan obez kontroller ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hasta seçimi

Çalışmamıza, klinik değerlendirme ve güncel astım rehberlerine göre, anamnez ve fonksiyonel reversibilite varlığı ile tanı konulmuş erken ve geç başlangıçlı obezite astım hastaları ve obez ancak astım olmayan kontroller dahil edilmiştir. Erken ve geç başlangıçlı astım için, 12 yaş sınır olarak alınmıştır. On iki yaşından erken başlayan astım, erken başlangıçlı obezite astımı olarak tanımlanmıştır [79].

Hastalar, klinik, fizik muayene bulguları ve objektif test yöntemleri olan solunum fonksiyon testleri, allerji testleri ile değerlendirilmiş, çalışma dahil edilme kriterlerine uygun, dışlanma kriterlerini içermeyen ve çalışmaya dahil olmayı kabul eden hastalar alınmıştır. Çalışmamızda obezite, vücut ağırlığının boyun karesine bölünmesiyle elde edilen VKİ'nin 30'un üstünde olması şeklinde belirlenmiştir.



Şekil 3-1: Çalışma akış şeması

Gönüllülerin araştırmaya dahil edilme kriterleri:

- 18-65 yaş aralığında,
- Objektif yöntemlerle kanıtlanmış astım varlığı/ kontrol grubu için yokluğu,
- Onam alınan,

Gönüllülerin araştırmadan dışlanma kriterleri:

- Bilinen malinite, kollojen doku hastalığı, primer / sekonder immünsüpresyon varlığı, insüline bağlı diyabeti olan,
- Sistemik steroid, immün süpresif ilaç kullanımı mevcut,
- Son 1 ay içinde geçirilmiş viral ya da bakteriyel enfeksiyonu olan,
- VKI 30kg/m²'nin altında,
- Aktif sigara içen hastalar çalışma dışında bırakılmıştır.

3.2. Astım tanısı ve fenotip belirlenmesi

Semptomlar, fizik muayene bulguları ve solunum fonksiyonlarının ölçümü ile astım tanısı konulmuş, hastanın özgeçmişi, ek hastalıkları ve allerji testi değerlendirilmiş klinik karakterlere göre astım fenotipi ayrımı yapılmıştır.

Özgeçmiş: Hastalığın başlangıç yaşı, atakların tetikleyicileri (egzersiz, menstrüasyon, meslek, allerjen ile maruziyet, aspirin, ilaç, besin), atakların sıklığı, hastanın sigara içme öyküsü, ek hastalıkları (gastroözefageal reflü, rinit, rinosinnüzit) değerlendirilmiştir.

Semptomlar: Nöbetler halinde gelen nefes darlığı, vizing, öksürük ve göğüste baskı hissi gibi semptomlar sorgulanmıştır.

Fizik muayene: Solunum sistemi oskültasyonunda; ekspiryumun uzaması, vizing ve ronküs değerlendirilmiştir.

Solunum fonksiyonları: Solunum Fonksiyon testleri Amerikan Toraks Derneği ve Türk Toraks Derneği'nin test koşulları için gerekli önerilere uyularak aynı teknisyen tarafından Viasys (Yorba Linda, California, ABD) cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir [126]. Test üç kez uygulanıp, en iyi test dikkate alınmıştır. Hava yolu obstrüksiyonu saptanan hastalarda kısa etkili beta-2 agonist inhalasyonundan (4

puf salbutamol (400mcg) 15-20 dakika sonra FEV1’de bazal değere göre >%12 veya >200 mL artış olması ile reversibilitenin varlığı tespit edilmiştir.

Allerjinin değerlendirilmesi: Deri prik testi için ALK-Abello, Madrid, İspanya ticari allerjen kitleri kullanılarak rehberlerde önerilen şekilde yapılmıştır [11]. Test için antihistaminik ilaçlar 10 gün, H₂ reseptör blokerler 24 saat, antidepresan ilaçlar 1 hafta önce kesilmiştir. Alerjen paneline ev tozları (*Dermatofagoides farinea*, *Dermatofagoides pteronyssinus*), hamam böceği (*Blatella germanica*), çimen poleni karışımı (grass mix), küf alerjenleri (*aspergillus* ve *cladosporium*) dahil edilmiştir. Negatif kontrol olarak serum fizyolojik (%0,9 sodyum klorür) ve pozitif kontrol için de histamin (10 mg/ml) kullanılmış, deri testi sonuçları 20 dakika sonra değerlendirilmiştir. Testin geçerlilik kriteri olarak pozitif kontrolün 3 mm ve üzerinde ve negatif kontrolün 3 mm’nin altında olması, endürasyon çapının 3 mm ve üzerinde gözlemlendiği alerjene karşı cilt reaksiyonu pozitif cevap olarak kabul edilmiştir.

3.3. Astım kontrolünün ve ağırlığının değerlendirilmesi

Hastaların astımlarının kontrol seviyesinin (astım kontrol testi-AKT) (Tablo 3-1) ve kullanılmakta olan tedaviye göre ağırlığı değerlendirilmiştir [28, 127, 1].

Tablo 3-1: Astım Kontrol Testi [2]

1. Son 4 haftada astımınız sizin işte, okulda veya evde yapmak istediklerinizi ne kadar etkiledi?				
Tamamen (1)	Çoğunlukla (2)	Bazen (3)	Nadiren (4)	Hiçbir zaman (5)
2. Son 4 hafta süresince ne kadar sıklıkta nefes darlığı hissettiniz?				
Günde bir kezden fazla (1)	Günde bir kez (2)	Haftada 3-6 kez (3)	Haftada 1-2 kez (4)	Hiçbir zaman (5)
3. Son 4 hafta süresince astım şikayetleriniz kaç gece veya sabah sizi normal kalkış saatinden önce uyandırdı?				
Haftada en az 4 gece (1)	Haftada 2-3 gece (2)	Haftada 1 kez (3)	Bir veya iki kez (4)	Hiçbir zaman (5)
4. Son 4 hafta süresince rahatlatıcı inhaler cihazınızı veya salbutamol türü nebulizer cihazınızı kaç kez kullandınız?				
Haftada en az 4 gece (1)	Haftada 2-3 gece (2)	Haftada 1 kez (3)	Bir veya iki kez (4)	Hiçbir zaman (5)
5. Son 4 haftadaki astım kontrolünüzü nasıl değerlendirirsiniz?				
Hiç kontrol altında değil (1)	Zayıf düzeyde (2)	Bir dereceye kadar (3)	İyi düzeyde (4)	Tamamen kontrol altında (5)

Her sorunun cevabıyla ilişkili puanlar yazılır. Beş puanın toplamı toplam puanı oluşturur (AKT puanının 20 ve üzerinde olması, astımın kontrol altında olduğunu düşündürür).

Günümüzde astım ağırlığı retrospektif olarak semptomları ve atakları kontrol altında tutabilen minimum ilaç gereksinimine göre sınıflandırılmaktadır. En uygun basamakta en az 3 aydır kontrol altında olan hastada eğer astım kontrolü:

- Düşük doz inhale kortikosteroid, lökotrien reseptör antagonisti veya sadece kurtarıcı ilaç ile sağlanabiliyorsa “hafif astım”,

- Basamak 3 tedavisi ile (düşük doz inhale kortikosteroid ve uzun etkili beta agonist) sağlanabiliyorsa “orta astım”,
- Basamak 4-5 tedavisi ile (orta-yüksek doz inhale kortikosteroid + uzun etkili beta agonist ve ek diğer ilaçlar) sağlanabiliyor ya da bu tedavilere rağmen astım kontrol altına alınmıyorsa “ağır astım” olarak kabul edilmektedir [2, 1].

3.4. Örnek toplama ve değerlendirme

3.4.1. Örnek temini

Hastalardan allerji muayenesi sırasında, 10 ml’lik iki adet heparinize ve bir adet kuru tüpe kan alınmıştır. Alınan örnekler, Aziz Sancar DETAE immünoloji laboratuvarında değerlendirilmiştir.

3.4.2. Deneyde Kullanılan Kimyasal Malzemeler

3.4.2.1. Ficoll

Ficoll (Sigma Chem. Co. St.Louis, MA) yoğunluk gradiyent santrifüjü ile periferik kan mononükleer hücreler (PKMH)’i ayıran, nötral, yüksek yoğunluklu, hidrofilik bir polisakkarittir. Konik tabanlı Falcon tüpün içerisine konulan Ficoll üzerine yayılan kan, yoğunluk farklarına göre yukarıdan aşağıya doğru serum, PKMH, Ficoll ve eritrosit/granülositler olmak üzere tabakalara ayrılmaktadır.

3.4.2.2. Fiksasyon ve Permeabilizasyon Kiti

Fiksasyon & Permeabilizasyon kiti (eBioscience, Inc., San Diego, USA) hücreleri, hücre içi boyama işlemine hazırlamada kullanılmaktadır. 1X konsantrasyondaki fiksasyon çözeltisi %4 formaldehit içermekte olup, hücre yüzeyini sabitlemek için kullanılmaktadır. Permeabilizasyon çözeltisi ise 10X konsantrasyonda olup, kullanılmadan önce 1:10 oranında distile suyla dilüe edilmektedir, %0,1 oranında saponin ve %0,0009 oranında sodyum azid içermektedir. Hücre yüzeyini permeabilitesini arttırarak, boyamada kullanılacak monoklonal antikorların hücre içine girmesini sağlamaktadır.

3.4.2.3. Lizis Çözeltisi

Lizis çözeltisi, akan hücre cihazı ile analiz için periferik kan hücrelerini floresan işaretli monoklonal antikorlarla inkübe edilmesini takiben, eritrositlerin lizisi amacıyla kullanılmaktadır. Formaldehit ve dietilen glikol içeren FACS Lysing Solüsyonu (BD

Bioscience, San Jose, USA) 1:10 oranında distile suyla dilüe edilip, tüp başına 2 ml eklenip, 15 dakika karanlıkta inkübe edilmiştir.

3.4.2.4. PBS (Fosfat Tampon Tuz Çözeltisi)

PBS (Sigma-Aldrich, USA), kan ile izotonik bir çözelti (pH=7,4) olma özelliğinden dolayı, hücre süspansiyonu hazırlama ve santrifüj ile hücre yıkama gibi işlemlerde kullanılmıştır.

3.4.2.5. Roswell Park Memorial Institute kültür (RPMI) 1640

Kültür için zenginleştirici besi yeri malzemesi olarak kullanılan RPMI-1640 (Gibco, Life Technologies, İngiltere) antibiyotik, antimikotik ve zenginleştirme maddelerinin eklenmesiyle *in vitro* deneyler için hazır hale getirilmiştir. Zenginleştirmede kullanılan malzemeler: inaktive edilmiş %10 steril fotal sıgır serumu (Bio Concept), %1 penisilin / streptomisin karışımı (Gibco), 5 ml 100X MEM vitamin çözeltisi (Gibco), %1 mM L-glutamin çözeltisi (Gibco), 5 ml 100X MEM non esansiyel amino asit çözeltisi (Gibco), 5 ml 100 mM sodyum piruvat MEM çözeltisi (Gibco) ve 50 mM β -merkaptotanol eklenerek gerçekleştirilmiştir.

3.5. Hücre Yüzey Molekül Ekspresyonlarının Belirlenmesi

Kontrol ve hasta gruplarından alınan 100 μ l heparinize kan örneklerine (2×10^5 h/ml) NK hücre oranları için anti human-CD3-FITC, anti human-CD16-Alexa Fluor, anti human-CD56-APC-Cy7, aktivasyon belirteci olarak anti human-CD69-APC-Cy7 monoklonal antikoru uygun dilüsyonlarda eklenmiş ve 20 dakika oda sıcaklığında, karanlıkta inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında hücrelerin üzerine eritrositlerin lize edilerek ortamdan uzaklaştırılması amacıyla 2 ml lizis çözeltisi eklenerek 15 dakika karanlıkta inkübe edilmiş ve hücrelerin üzerine izotonik bir tampon çözelti olan 2 ml PBS (Phosphate buffered saline - Fosfat tampon tuzu) eklenerek 10 dakika 1800 rpm'de 2 kez santrifüj edilmiştir. Üst sıvılar uzaklaştırıldıktan sonra hücrelerin üzerine %2 paraformaldehit içeren PBS ilave edilerek akan hücre ölçer cihazı (FACS Aria II, Becton Dickinson, San Jose, CA) ile değerlendirme yapılmıştır.

3.6. Periferik Kan Mononükleer Hücre (PKMH) Eldesi

Heparinli tüp içerisine alınan 15 ml periferik venöz kan örneği, ficoll üzerine ficoll:kan oranı 1:2 olacak şekilde pastör pipeti ile yayılmış, bu işlem sırasında Ficoll ve sulandırılmış kan örneğinin birbirine karışmamasına ve ficoll ile kan örneğinin ayrı katmanlar halinde kalmasına dikkat edilmiştir. Sonrasında oda sıcaklığında 2000 rpm'de

20 dakika santrifüj edilerek, interfazdan toplanan PKMH'ler 2 kez PBS ile 2000 rpm'de soğutmalı santrifüjde yıkanmıştır. Santrifüjü takiben, tripan mavisi kullanılarak Neubauer hemositometresinde PKMH sayımı yapılmıştır. Elde edilen hücreler deneylerde kullanılabilecek kadar buzda zenginleştirilmiş RPMI-1640 medyumda muhafaza edilmiştir.

3.7. NK Alt Gruplarında Hücre İçi Sitokin ve NK Reseptörlerinin Tayini

NK hücre içi sitokin ve hücre reseptörlerini belirlemek amacıyla, hücreler bir kez PBS ile 1800 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş, sonrasında üst sıvılar uzaklaştırılmıştır. PKMH'ler her kuyucukta 10^6 hücre ve totalde 1 ml RPMI-1640 medyumuna olacak şekilde 24 kuyucuklu plaklara eklenmiştir. Stimülasyonsuz, IL-23 ve IL-12'li şartlarda 37°C'de %5 CO₂ içeren etüvde kültüre alınmıştır. Kültürün son 6. saatinde hücreler forbol miristat asetat (PMA) ve ionomisin ile uyarılmış ve kültür şartlarına sitokin salınımının durdurulması amacıyla, bir protein transport inhibitörü olan Brefeldin A (eBioscience, San Diego, CA) ilave edilmiştir. Kültür sonrası hücre yüzey molekül ekspresyonlarını belirlemek için birinci tüpe anti human-CD3-FITC, anti human-CD16-Alexa Fluor, anti human-CD56-APC/Cy7 ve anti human-CD69-PE Dazzle, anti human-NKG2D-PERCP/Cy5.5, anti human-NKp46-Pacific BLUE, anti human-NKp44-APC ikinci tüpe anti human-CD3-FITC, anti human-CD16-Alexa Fluor, anti human-CD56-APC/Cy7 ve anti human-CD69-PE Dazzle, anti human-NKG2D-PERCP/Cy5.5, anti human-NKp46 Pacific BLUE, anti human-NKp44-APC monoklonal antikorları (eBioscience™) eklenerek 20 dakika karanlıkta oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır (Tablo 3-2). İnkübasyon sonrası hücre içi sitokin boyama aşamalarına geçilmiştir.

Bu aşamada 2×10^5 hücre süspansiyonu üzerine önce 100 µl fiksasyon medyumuna eklenmiş vorteks ile karıştırıldıktan sonra 15 dakika karanlıkta inkübasyonun ardından PBS ile 1800 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Bu aşamayı takiben, hücre membranı üzerinde delikler açarak hücre içi boyama yapılabilmesi amacıyla 100 µl permeabilizasyon medyumuna ile birlikte birinci tüpe anti human-IFN-γ-PE-CY7 ve anti human-IL-17-PE, ikinci tüpe anti human-IL-10-PE-Cy7 ve anti human-IL-13-PE işaretli monoklonal antikorlar uygun dilüsyonlarda eklenmiştir. Karanlıkta 15 dakika inkübasyonun ardından 5 dakika 1800 rpm'de yıkama yapılmış, üst sıvılar uzaklaştırıldıktan sonra üzerlerine FACS flow sheat sıvısı eklenen tüplerin

değerlendirilmesi FACS Aria II akan hücre ölçer cihazında (Becton Dickinson San Jose, CA) yapılmıştır.

Tablo 3-2: Hücre yüzey boyamada kullanılan monoklonal antikorlar

Unstimüle, IL-23, IL-12								
CD3	CD16	CD56	CD69	NKG2D	NKp46	NKp44	IFN- γ	IL-17
FITC	Alexa Fluor	APC/Cy7	PE Dazzle	PERCP/Cy5.5	Pacific BLUE	APC	PE-CY7	PE
CD3	CD16	CD56	CD69	NKG2D	NKp46	NKp44	IL-10	IL-13
FITC	Alexa Fluor	APC/Cy7	PE Dazzle	PERCP/Cy5.5	Pacific BLUE	APC	PE-CY7	PE

3.8. NK Sitotoksitesinin CD107a ve Granzim A Salınımı ile Belirlenmesi

NK hücrelerinin sitotoksik aktivitelerini tayin etmek amacıyla hedef hücre olarak K562 eritromyeloid lösemi hücre serisi kullanılmıştır. Periferik kandan izole edilen PKMH'ler stimülasyonsuz ve efektör:hedef oranı 10:1 (5×10^5 PKMH ve 5×10^4 K562) olacak şekilde K562 hücreleriyle anti human-CD107a-PerCp antikoru ortamında 5 saat 37°C %5 CO₂ içeren etüvde kültüre edilmiştir. İnkübasyon sonrası yıkama aşamasını takiben hücreler anti human-CD3-FITC, anti human-CD56-APC/Cy7, anti human-CD16-Alexa Fluor antikorlarıyla oda sıcaklığında 20 dakika inkübe edilmiş, yıkama aşamasını takiben tüplere 100 uL fiksasyon medyumuna eklenmiştir. Karanlıkta 15 dakika inkübasyonun ardından PBS ile 1800 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiş ve ardından, hücre membranı üzerinde delikler açarak hücre içi boyama yapılabilmesi amacıyla 100 µl permeabilizasyon medyumuna beraberinde tüplere anti human-Granzim-A-PE antikoru ilave edilmiştir. İnkübasyon aşamaları sonrası NK hücre sitotoksitesinin temel göstergeleri olan CD107a degranülasyon oranı ve Granzim A salınımı BD FACSCalibur (Becton Dickinson San Jose, CA) akan hücre ölçer cihazında değerlendirilmiştir.

3.9. Analiz ve İstatistikler

Çalışmada gerçekleştirilen tüm deneylerin sayım ve analizleri BD CellQuest yazılımı kullanılarak yapılmıştır. Elde edilen verilerin istatistiksel analizleri SPSS 24 programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Sürekli değişkenleri tanımlamak için deskriptif istatistikler kullanılmıştır (ortalama, standart sapma, minimum, medyan, maksimum). Bağımsız ve normal

dağılıma uygunluk göstermeyen ikiden fazla sürekli değişkenin karşılaştırması Kruskal Wallis testi ile, bağımsız ve normal dağılıma uygunluk göstermeyen iki değişkenin karşılaştırması Mann Whitney U testi ile yapılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi 0,05 olarak belirlenmiştir ve olasılık (probability) değeri 'p' ile gösterilmiştir.



4. BULGULAR

4.1. Hastaların Demografik Özellikleri

Astım tanısıyla takip edilen ve obezitesi olan 18 hasta poliklinikte değerlendirildi. Dışlanma kriterleri [sigara içiyor olma (n=3), kollajen vasküler hastalık şüphesi (n=1), obezite kriteri için yeterli kiloda olunmaması (n=1)] nedenleriyle 5 hasta çalışma dışı bırakıldı ve toplamda 13 hasta; 5 obez, ancak astımı olmayan hastane personeli ise kontrol grubu olarak, yazılı onamları alınması sonrasında çalışmaya dahil edildi.

Astım başlangıç yaşı, allerji durumları, ek allerjik hastalıkları sorgulandı, kullandıkları ilaçlar gözden geçirildi.

Hastalar, astımlarının başlangıç yaşına göre 12 yaştan önce başlayan ve sonra başlayan olarak erken ve geç başlangıçlı obezite astımı fenotiplemesi için iki ayrı gruba ayrıldı. Astımı olmayan obez kontrol grubu ile birlikte üç grubun özellikleri karşılaştırıldı (Tablo 4-1). Gruplar arasında cinsiyet ve allerji varlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi (sırasıyla $p=0,047$ ve $p=0,03$).

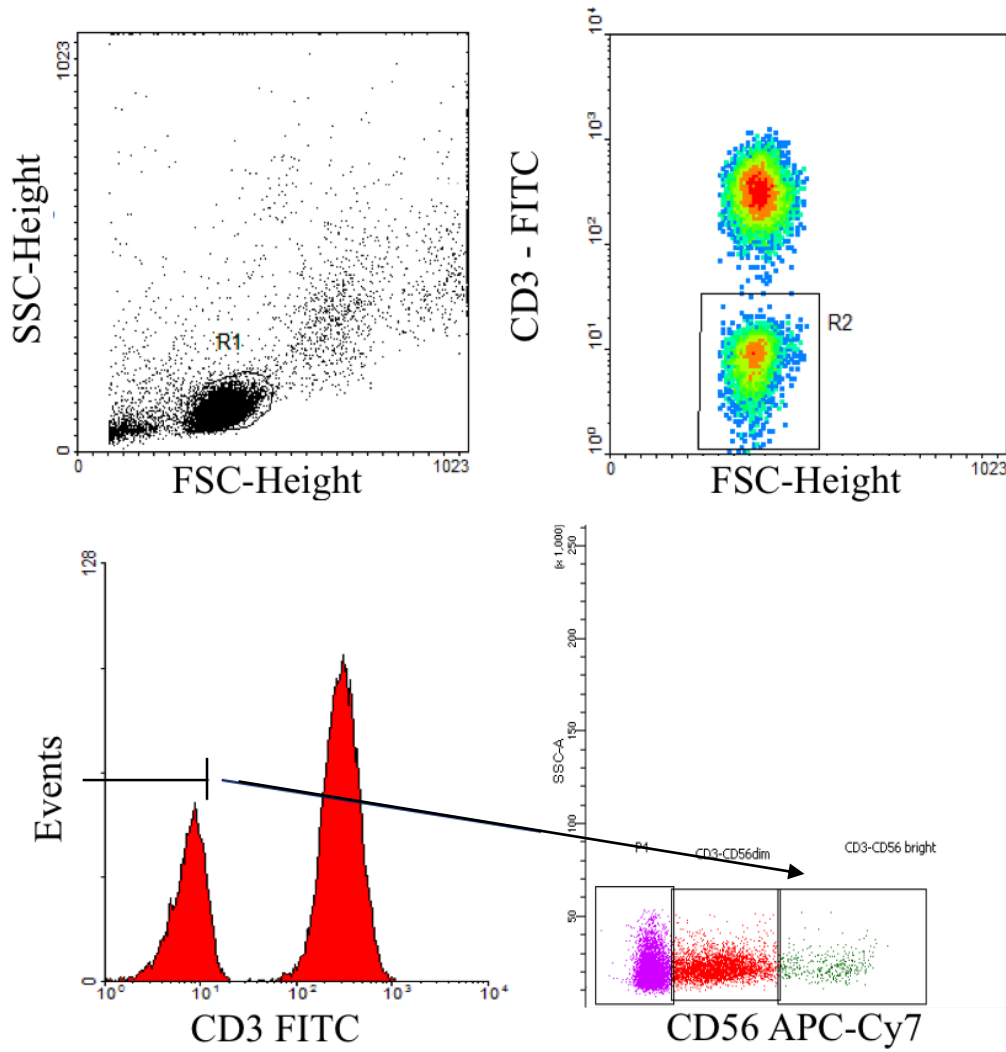
İlave olarak, astımı olanlar arasında ikinci bir sınıflama daha yapılarak istatistiksel incelemelere dahil edildi. Allerji testinde klinik olarak bulgusu olan bir pozitiflik saptanması durumuna göre astımlı hastalar, allerjik obezite ilişkili astım (n=7) ve allerjik olmayan obezite ilişkili astım (n=6) olarak ikiye ayrıldı. Astımı olmayan grupta allerji mevcut değildi.

Tablo 4-1: Obezite ilişkili astım ve kontrol gruplarının karşılaştırılması

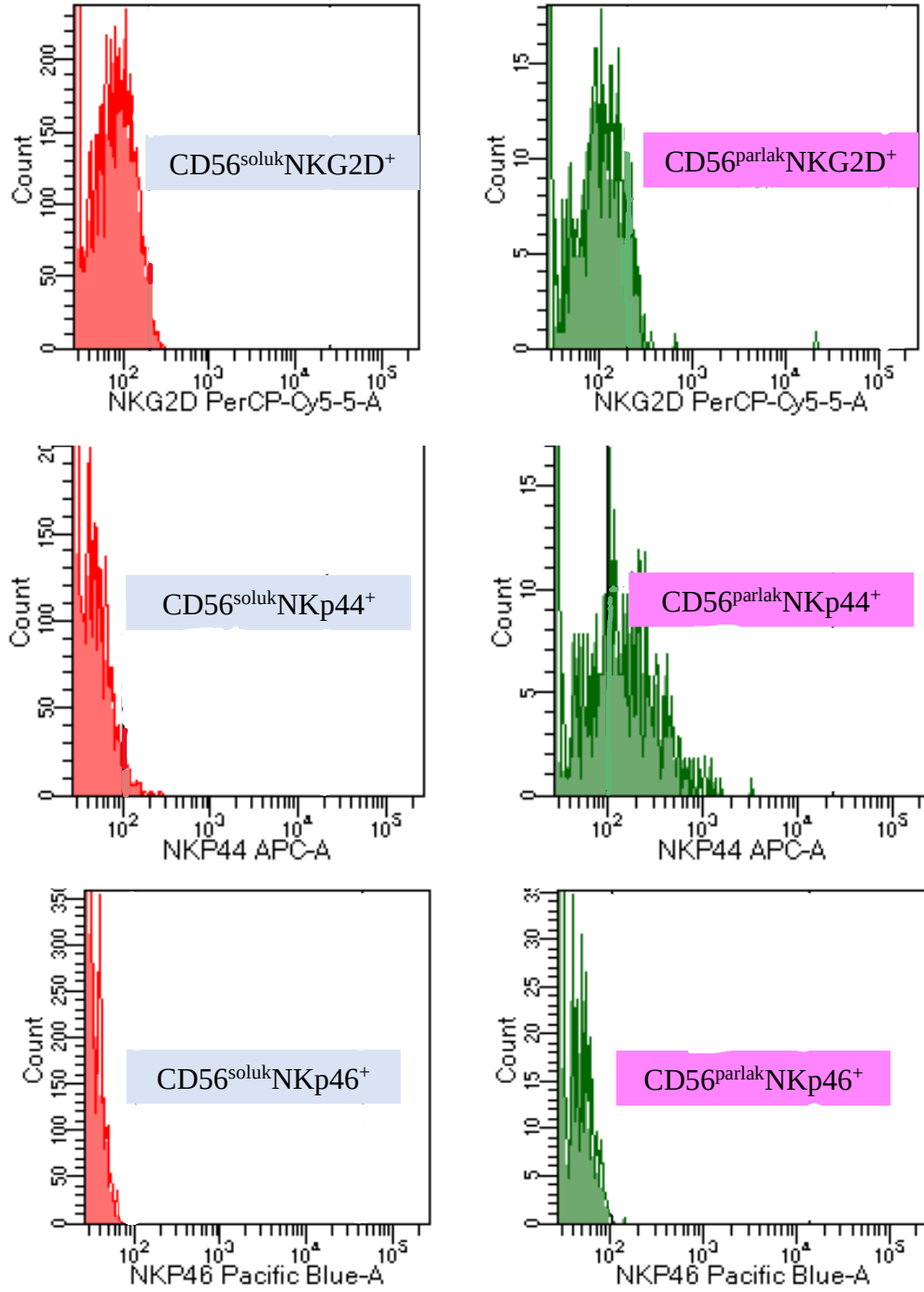
	<i>Erken başlangıçlı obezite astımı (n=5)</i>	<i>Geç başlangıçlı obezite astımı (n=8)</i>	<i>Kontrol grubu obez (n=5)</i>	<i>p değeri</i>
<i>Değişken</i>	Ortalama ± Standart Sapma			
Yaş (yıl)	42 ± 10	46 ± 8	42 ± 8	0,6
Vücut Kitle İndeksi (km/m ²)	36 ± 4	36 ± 4	34 ± 4	0,6
Astım kontrol testi	20 ± 1,4	17 ± 1,5		0,4
n (%)				
Cinsiyet (Kadın)	2 (40)	8 (100)	3 (60)	0,047
Astım ağırlığı				
• Orta	3 (60)	5 (63)		
• Ağır	2 (40)	3 (37)		
Allerjik Hastalıklar				
Allerji (var)	4 (80)	3 (37)	0 (0)	0,03
Rinit (var)	5 (100)	1 (12,5)	1 (12,5)	
Egzema	1 (20)	0 (0)	0 (0)	
Ürtiker	1 (20)	1 (12,5)	0 (0)	
Konjonktivit	1 (20)	0 (0)	0 (0)	

4.2. Periferik Kan NK Hücre Alt Gruplarının ve Reseptör Düzeylerinin Saptanması

Obezite astımı patogeneğinde NK hücrelerinin rolünü saptamak amacıyla erken başlangıçlı, geç başlangıçlı obezite astımı hastaları ve astımı olmayan obez hastaların periferik kan CD3⁺ hücre popülasyonunda NK hücre alt grup oranları akan hücre ölçerinde analiz edilmiştir. CD56_{soluk} ve CD56_{parlak} NK hücre alt gruplarını saptamak için, CD3/SSC histogramında, öncelikle CD3⁺ hücreler kapılanmış ve bu kapı içindeki CD56_{soluk} ve CD56_{parlak} hücre oranları değerlendirilmiştir (Şekil 4-1).

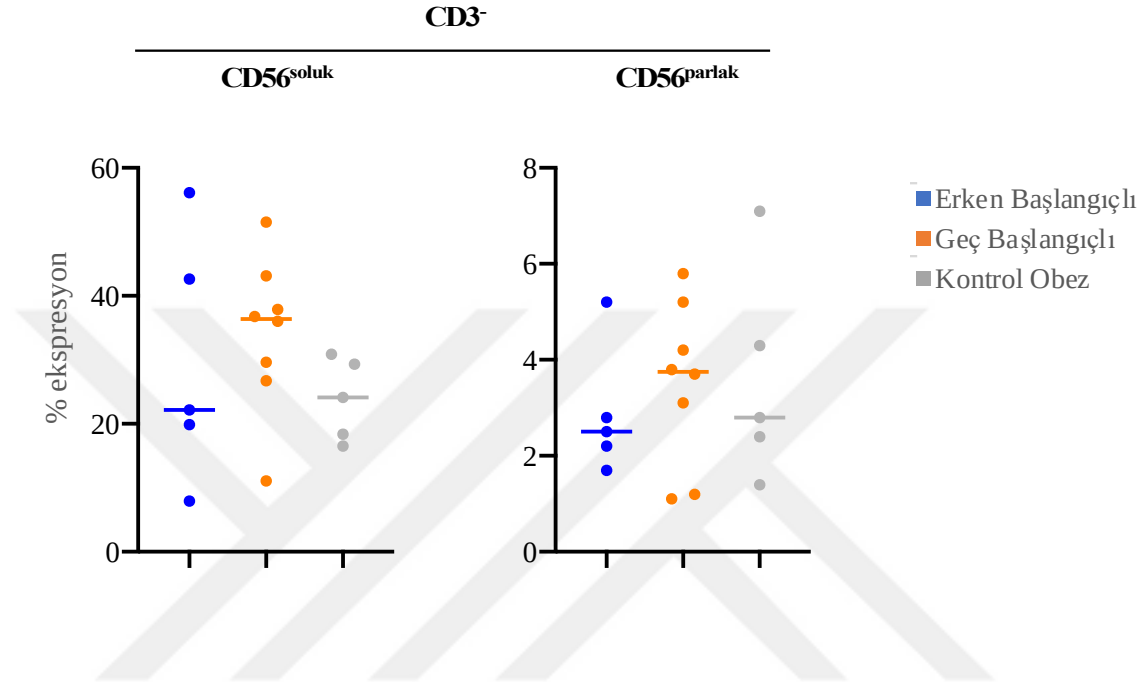


Şekil 4-1: CD3- hücre grubunda NK hücre kapılama stratejisi



Şekil 4-2: CD3- hücre grubunda NK hücre reseptörleri

Astım gruplarının CD56_{soluk} ve CD56_{parlak} NK hücre alt grup oranları birbirleri ve obez kontrollerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır (Şekil 4-3).



Şekil 4-3: CD56_{soluk} ve CD56_{parlak} NK hücre alt grup oranlarının karşılaştırılması

NKG2D, NKp46 ve NKp44 aktivatör reseptörleri açısından incelendiğinde gruplar arasında değişiklik saptanmamıştır. Aktivatör reseptör yüzdeleri açısından gruplar arasındaki bu benzerlik, allerji durumuna göre yapılan ikinci grupta da değişmemiş, allerjik obez astım, allerjik olmayan obez astım ve kontrol grubunda, NK hücre reseptörleri açısından fark gözlenmemiştir. Ancak, gruplardaki örnek miktarının sınırlı olması nedeniyle anlamlılığa yakın sonuçlar incelendiğinde, CD56_{soluk} hücrelerdeki NKp46 hücre reseptör yüzdesi astımlı (erken/geç başlangıçlı, allerjik/allerjik olmayan) gruplarda, kontrol grubuna kıyasla düşük tespit edilmiştir (sırasıyla $p=0,093$, $p=0,079$).

Tablo 4-2 Astım başlangıç yaşına göre hücre ve NK hücre reseptörleri oranları

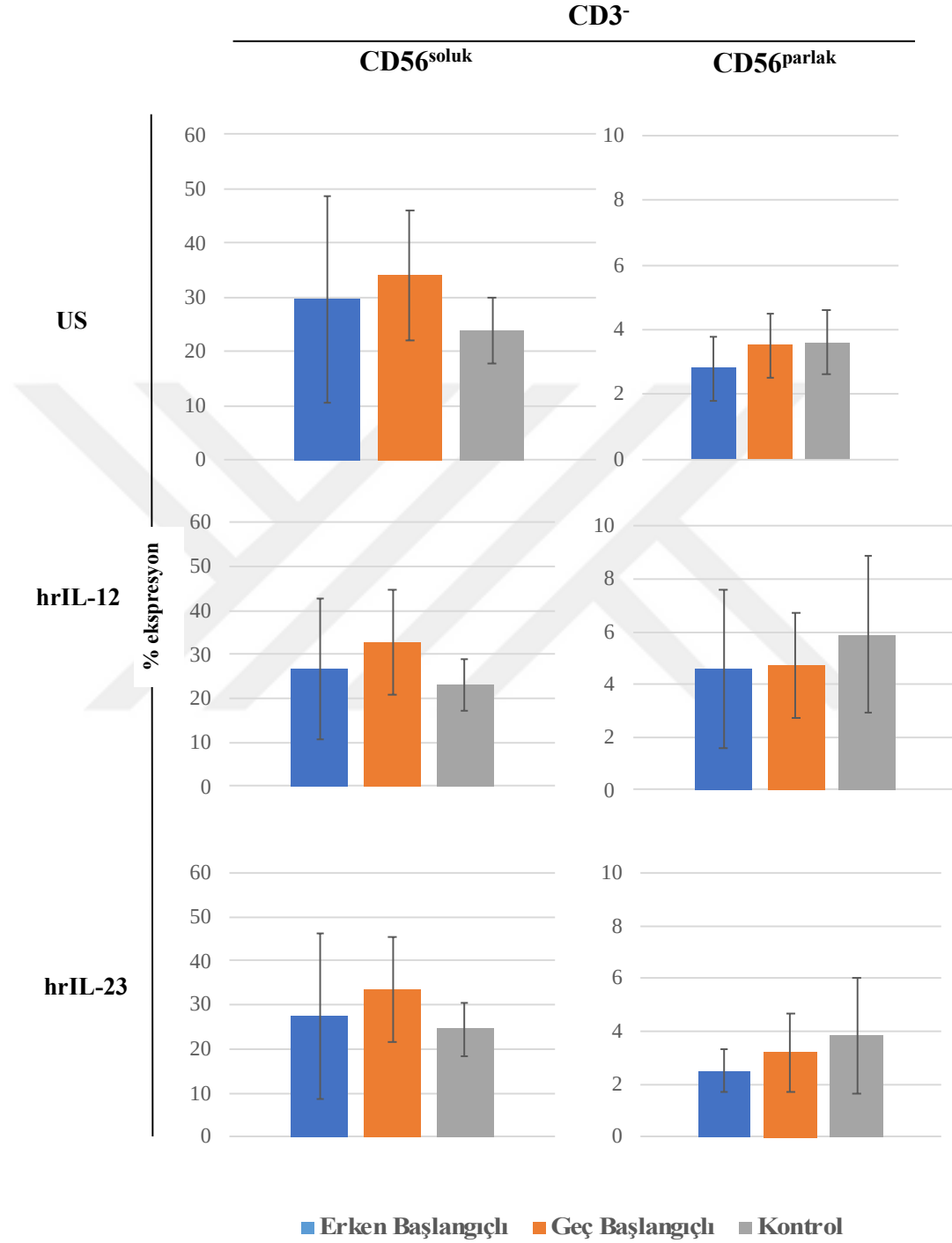
		Erken Başlangıçlı Astım	Geç Başlangıçlı Astım	Kontrol	p değeri
CD56_{parlak} hücre		2,8 ± 1,3	3,5 ± 1,6	3,6 ± 1,4	0,7
CD56_{soluk} hücresi		29,7 ± 19,3	34 ± 12	23,8 ± 6	0,2
CD3-	NKG2D	1,2 ± 0,3	1,03 ± 0,6	1,32 ± 0,9	0,8
	NKp44	2,7 ± 1	4,6 ± 3,9	3,1 ± 1,3	0,4
	NKp46	0,02 ± 0,04	0,2 ± 0,5	0,2 ± 0,4	0,5
CD56_{parlak}	NKG2D	6,4 ± 2,2	6,6 ± 3,22	4,74 ± 4	0,09
	NKp44	51,7 ± 21	47,8 ± 22,9	53,3 ± 13,1	0,6
	NKp46	0,1 ± 0,2	1,7 ± 4	0,8 ± 1,3	0,4
CD56_{soluk}	NKG2D	1,3 ± 0,2	1,1 ± 0,7	2,3 ± 1,7	0,5
	NKp44	4,2 ± 3,8	6,4 ± 6,4	3,5 ± 0,4	0,9
	NKp46	0	0,1 ± 0,4	0,2 ± 0,3	0,6

4.3. Sitokinle Aktive PKMH'lerde NK Hücre Yanıtları

PKMH'lerin IL-12 ve IL-23 sitokinleri ile *in vitro* şartlarda uyarımı sonrasında NK hücre yanıtları akan hücre ölçer cihazında değerlendirilmiştir.

Allerji varlığına ya da astım başlangıç yaşına göre yapılan sınıflamalara göre, hasta grupları birbiriyle ve kontrollerle karşılaştırıldığında sitokin uyarımı sonrası CD56_{soluk} ve CD56_{parlak} NK hücre oranları arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (Şekil 4-4). Sadece kontrol grubunun CD56_{parlak} NK hücre oranlarında IL-12 ile stimülasyon sonrasında stimülasyonsuz şarta göre anlamlı artış saptanmıştır (p=0,04). Ayrıca allerjik olmayan obezite astım grubunda, hücrelerin IL-12 ile stimülasyonu

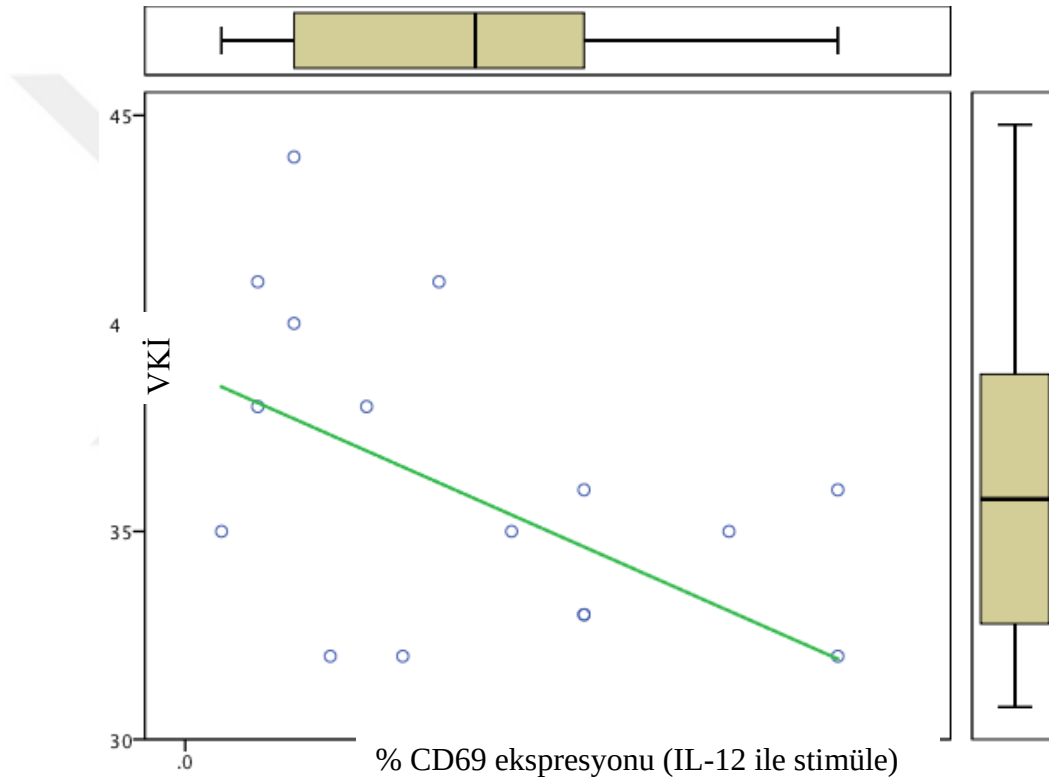
sonrası, stimülasyonsuz şarta göre CD56^{parlak} NK hücre oranlarında anlamlılığa yakın bir artış gözlenmiştir (p=0,05).



Şekil 4-4: Farklı sitokinlerle uyarı sonrası astım başlangıç yaşına göre farklı gruplarda CD56^{soluk} ve CD56^{parlak} NK hücre oranları

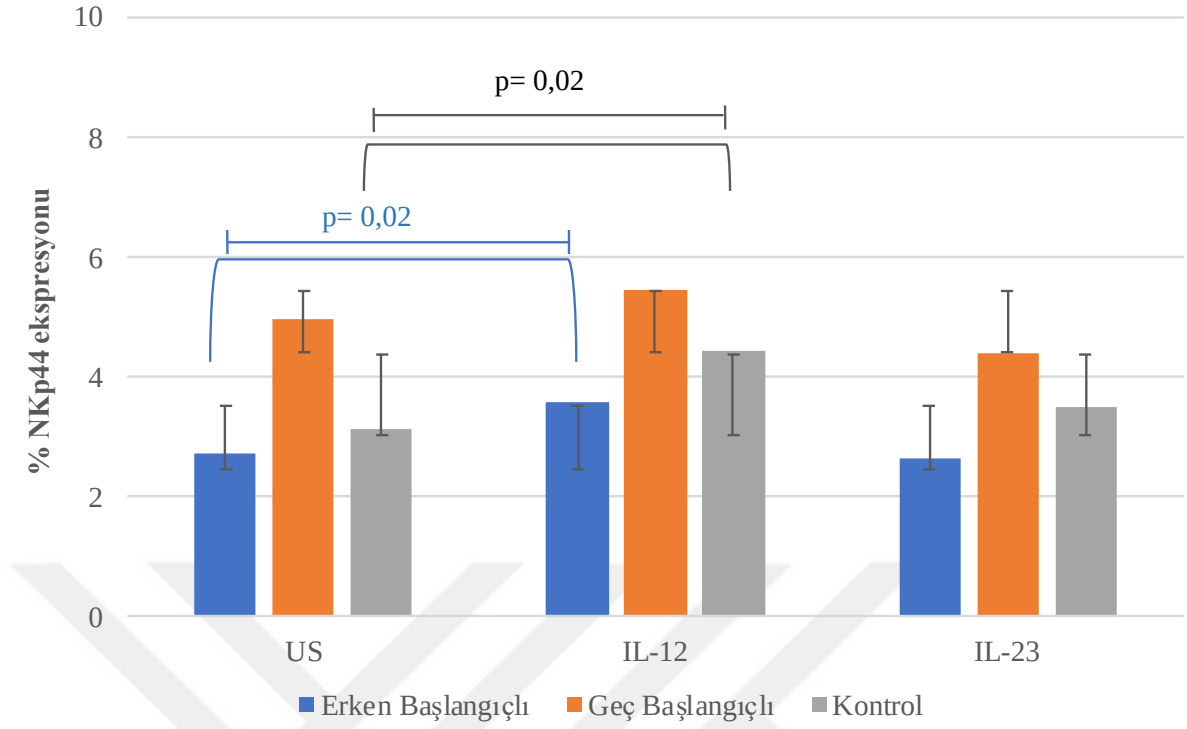
In vitro şartlarda IL-12 ve IL-23 uyaranlarına karşı NK hücre aktivasyon yanıtı değerlendirildiğinde, stimülasyonsuz şarta göre astım ve kontrol gruplarında CD69 ekspresyon yüzdelerinde değişiklik saptanmamıştır.

VKİ ile CD69 ilişkisi değerlendirildiğinde, IL-12 ile stimüle koşulda, negatif korrelasyon tespit edilmiştir ($p=0,022$, $r=-0,534$) (Şekil 4-5).



Şekil 4-5: IL-12 ile stimüle koşulda VKİ ile CD69 yüzde ekspresyonunun korrelasyonu

Sitokin uyarısının NK hücre reseptör ekspresyonuna etkisi değerlendirildiğinde, erken başlangıçlı astım hastalarında ve kontrollerde IL-12 uyarısının NKp44 yüzdesini anlamlı olarak arttırdığı gözlenmiştir ($p=0,02$) (Şekil 4-6).

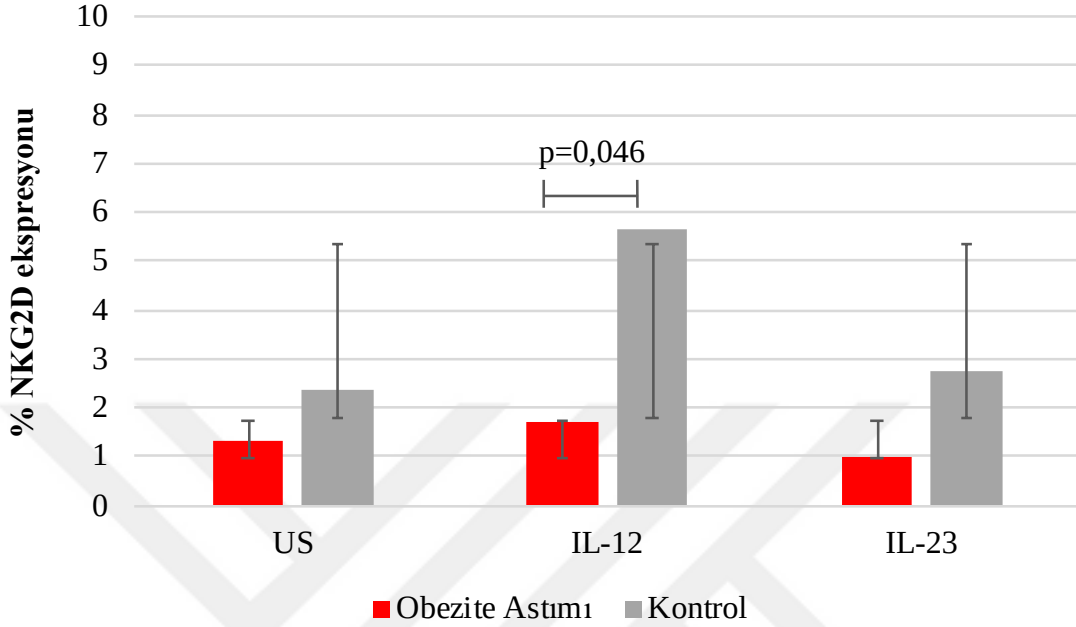


Şekil 4-6: Sitokin uyarısının CD3⁺ hücre popülasyonunda NKp44 reseptör ekspresyonuna etkisi

Alt gruplara ayırmadan obez astımı olan grup, astımı olmayan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, NKG2D reseptör ekspresyonunun astımlı grupta düşük olduğu, bu farkın CD56^{soluk} hücrelerde IL-12 stimülasyonu sonrasında anlamlılık düzeyine ulaştığı tespit edilmiştir ($p=0,046$) (Şekil 4-7) (Tablo 4-3).

Tablo 4-3 Astım varlığına göre NK hücre reseptörleri oranları

			Obezite Astımı	Obezite Kontrol grubu	p
NK hücre alt grubu	Reseptör	Şart	Ort±SS Med. (Min.- Maks.)	Ort±SS Med. (Min.- Maks.)	
CD56 ^{soluk} Kapısı	NKG2D	Stimülasyonsuz	1,33±0,8 1,4 (0-3,2)	2,38±1,8 2,1 (0,2-4,6)	0,246
		IL-12	1,7±1,4 1,4 (0,2-5,1)	5,6±4,6 5,5 (0,9-12,2)	0,046
		IL-23	0,98±0,68 1,1 (0,1-2,3)	2,72±2,7 2,1 (0,2-7,3)	0,095
	NKp44	Stimülasyonsuz	6,4±5,6 3,2 (1,5-18,4)	3,6±0,5 3,7 (3,1-4,2)	1,00
		IL-12	7,2±5,1 4,6 (1,2-15,4)	5,7±1,02 5,6 (4,2-6,8)	0,775
		IL-23	6,16±4,4 4,4 (1,4-13,8)	3,88±0,2 3,9 (3,6-4,0)	0,503
	NKp46	Stimülasyonsuz	0,08±0,3 0 (0-1,1)	0,2±0,3 0,1 (0-0,8)	0,143
		IL-12	0,05±0,14 0 (0-0,5)	0,2±0,35 0 (0-0,8)	0,503
		IL-23	0,03±0,05 0 (0-0,1)	0,14±0,2 0,1 (0-0,5)	0,289
CD56 ^{parlak} Kapısı	NKG2D	Stimülasyonsuz	7,9±6,6 7 (1,1-27,1)	4,7±4,1 3,6 (1,4-11,6)	0,289
		IL-12	9,5±6,4 8,1 (1-21,6)	14,8±9,4 18,8 (2,6-23,2)	0,336
		IL-23	6,2±2,7 5,8 (2,1-10,4)	10,9±7,9 7,2 (4,2-24)	0,246
	NKp44	Stimülasyonsuz	53,3±20,6 54,4 (20,3-84,9)	53,3±13,1 47,8 (40,5-67,8)	0,924
		IL-12	55,2±20,5 62,7 (22,1-76,4)	48,8±11,1 45,6 (36,2-66)	0,503
		IL-23	53,1±17,3 52,3 (30,5-78,2)	54,7±9,5 59,5 (44,5-65,0)	0,775
	NKp46	Stimülasyonsuz	0,87±2,7 0 (0-10)	0,86±1,4 0,4 (0-3,3)	0,387
		IL-12	0,7±1,7 0 (0-5,8)	0,86±1,7 0,1 (0-4)	0,173
		IL-23	0,49±1,1 0 (0-3,9)	0,48±0,5 0,3 (0-1,3)	0,289



Şekil 4-7: Sitokin uyarısının CD56_{soluk} hücre popülasyonunda NKG2D reseptör ekspresyonuna etkisi

4.4. NK Hücre Alt Grupları Hücre İçi Sitokin İçeriği

Obezite astımında NK hücre içi sitokin düzeylerini ve uyarımın etkisini saptamak amacıyla, PKMH'ler IL-12 ve IL-23 sitokinleriyle *in vitro* şartlarda kültüre alınmıştır. Kültür sonrası CD56_{soluk} ve CD56_{parlak} NK hücre alt gruplarında hücre içi IFN- γ , IL-17, IL-10 ve IL-13 seviyeleri akan hücre ölçer cihazıyla saptanmıştır.

Başlangıç zamanına göre erken başlangıçlı, geç başlangıçlı obezite astımı ve kontrol grubunda hücre içi sitokinlerindeki değişim üç farklı koşulda [stimülasyonsuz (US), IL-12 ile ve IL-23 ile stimüle] incelenmiş ve stimülasyonlu şartlar US ile kıyaslanmıştır (Şekil 4-8, 4-9).

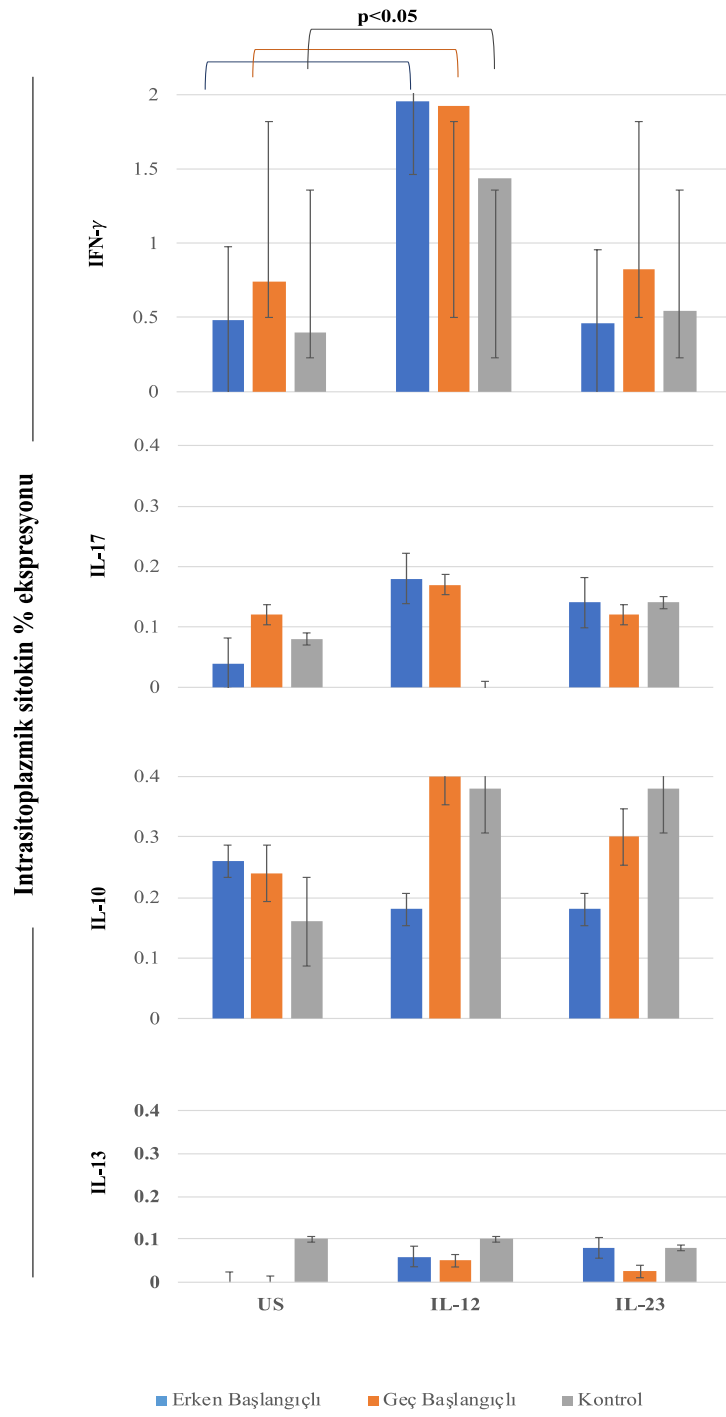
Yapılan analizlerde, CD56_{parlak} NK alt grubunda IL-10 içeriğinin, geç başlangıçlı astımda IL-12 stimülasyonu ile anlamlı artış gösterdiği ($p=0,018$), kontrol grubunda ise IL-12 ve IL-23 stimülasyonları ile artış gösterdiği tespit edilmiştir ($p=0,03$). Erken başlangıçlı astımda ve diğer hücre alt gruplarında hücre içi IL-10 içeriğinde istatistiksel açıdan bir fark saptanmamıştır (Şekil 4-9) (Tablo 4-4).

Tablo 4-4 Astım başlangıç yaşına göre hücre ve NK hücre reseptörleri oranları

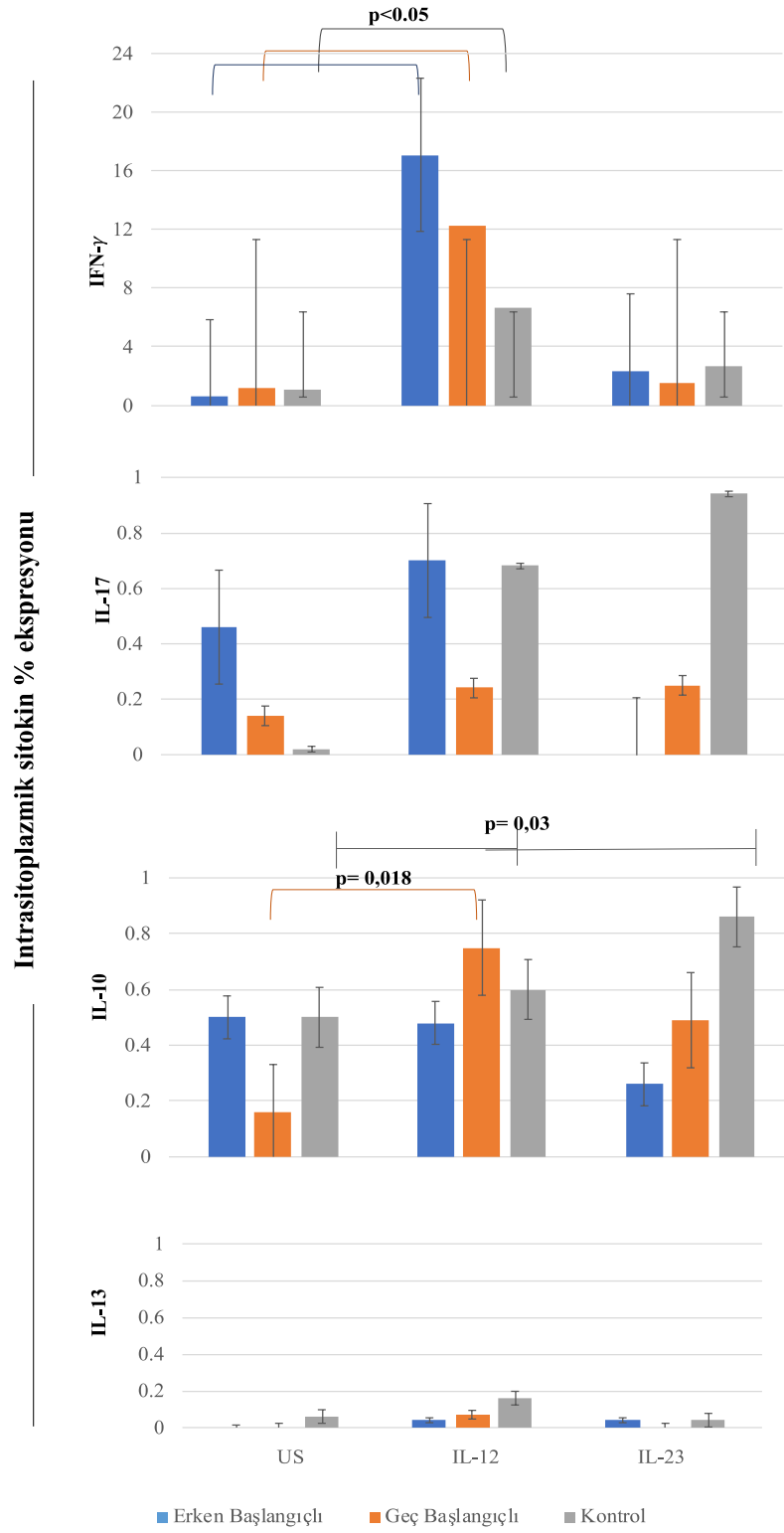
			Obezite Astımı	Obezite Kontrol grubu	p
NK hücre alt grubu	Sitokin	Şart	Ort±SS Med. (Min.-Maks.)	Ort±SS Med. (Min.-Maks.)	
CD56 _{soluk} Kapısı	IFN- Gama	Stimülasyonsuz	0,64±0,56 0,5 (0,1-2,3)	0,4±0,26 0,3 (0,1-0,8)	0,336
		IL-12	1,94±1,27 1,9 (0,1-4,8)	1,44±1,35 0,7 (0,2-3,5)	0,503
		IL-23	0,68±0,8 0,5 (0-3,3)	0,54±0,72 0,3 (0-1,8)	0,443
	IL-17	Stimülasyonsuz	0,092±0,1 0,1 (0-0,3)	0,08±0,13 0 (0-0,3)	0,775
		IL-12	0,18±0,2 0,1 (0-0,6)	0,3±0,5 0 (0-1,2)	0,849
		IL-23	0,13±0,22 0 (0-0,6)	0,14±0,22 0 (0-0,5)	0,924
	IL-10	Stimülasyonsuz	0,25±0,22 0,2 (0-0,8)	0,16±0,09 0,1 (0,1-0,3)	0,566
		IL-12	0,31±0,27 0,3 (0,1-1,1)	0,38±0,19 0,3 (0,2-0,7)	0,289
		IL-23	0,25±0,18 0,2 (0,1-0,7)	0,38±0,26 0,5 (0,1-0,6)	0,503
	IL-13	Stimülasyonsuz	0 (sabit)	0,1±0,2 0 (0-0,4)	0,208
		IL-12	0,054±0,09 0 (0-0,3)	0,1±0,14 0 (0-0,3)	0,633
		IL-23	0,05±0,08 0 (0-0,2)	0,08±0,13 0 (0-0,3)	0,703
CD56 _{parlak} kapısı	IFN- Gama	Stimülasyonsuz	0,96±0,89 0,9 (0-3,3)	1,06±0,42 0,9 (0,8-1,8)	0,633
		IL-12	14,2±9,3 13,5 (2,7-27)	6,7±3,9 6,2 (0,7-10,3)	0,173
		IL-23	1,89±1,9 1,3 (0-6)	2,7±3,06 1,4 (0,7-8,1)	0,566
	IL-17	Stimülasyonsuz	0,26±0,7 0 (0-2,3)	0,02±0,04 0 (0-0,1)	0,849
		IL-12	0,41±0,6 0,2 (0-1,8)	0,68±0,9 0,2 (0-2,3)	0,703
		IL-23	0,15±0,3 0 (0-1)	0,04±0,09 0 (0-0,2)	0,775
	IL-10	Stimülasyonsuz	0,29±0,5 0 (0-1,9)	0,5±0,68 0,2 (0-1,7)	0,387
		IL-12	0,65±0,57 0,6 (0-1,6)	0,6±0,3 0,4 (0,4-1,1)	1,00

		IL-23	0,4 $\pm$ 0,4 0,4 (0-1,2)	0,86 $\pm$ 0,6 0,7 (0,3-1,8)	0,117
	IL-13	Stimölasyonsuz	0 (sabit)	0,06 $\pm$ 0,1 0 (0-0,3)	0,566
		IL-12	0,062 $\pm$ 0,1 0 (0-0,3)	0,16 $\pm$ 0,36 0 (0-0,8)	0,924
		IL-23	0,01 $\pm$ 0,06 0 (0-0,2)	0,04 $\pm$ 0,09 0 (0-0,2)	0,703





Şekil 4-8: Astım başlangıcına göre sınıflamada, farklı uyarıların CD3-CD56^{soluk} NK hücre içi sitokin düzeylerine etkisi



Şekil 4-9: Astım başlangıcına göre sınıflamada, farklı uyarıların CD3-CD56^{parlak} NK hücre içi sitokin düzeylerine etkisi

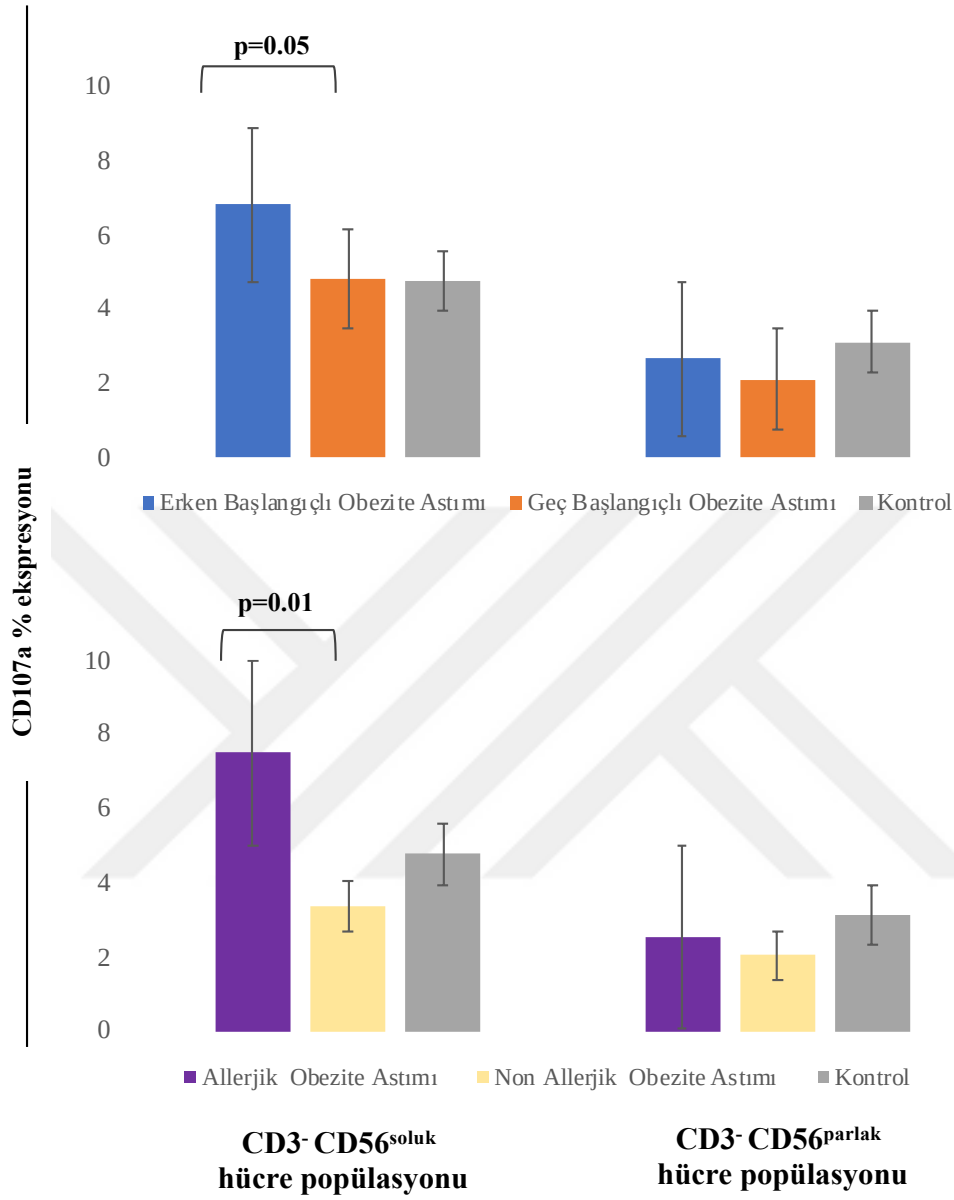
Astımlı grupta kontrol grubuna göre CD3- hücrelerde IL-17 içeriği daha yüksek olma eğilimindedir ($p=0,095$). Allerjik ve allerjik olmayan astım gruplarında, IL-12 ile stimülasyon sonrası CD3- hücre popülasyonları kıyaslandığında, hücre içi IL-17 içeriğinin allerjik grupta, allerjik olmayan gruba göre anlamlı düzeyde yükseldiği tespit edilmiştir ($p=0,035$).

IFN- γ içeriği açısından total CD3- hücre popülasyonunda, CD56_{soluk} ve CD56_{parlak} NK hücre alt gruplarında IL-12 ve IL-23 ile stimülasyon sonrası istatistiksel olarak anlamlı değişiklikler gözlemlenmiştir. Her iki obezite astımı alt tipinde ve kontrol grubunda total CD3- hücre gruplarında ($p=0,05$; $p=0,07$; $p=0,01$), CD56_{soluk} ($p=0,09$; $p=0,05$; $p=0,008$) ve CD56_{parlak} NK hücrelerinde ($p=0,02$; $p=0,04$; $p=0,01$) IL-12 uyarımı ile hücre içi IFN- γ düzeyi artmıştır.

Veriler; obezite astımı, astım başlangıç zamanı ya da allerjiye göre sınıflandırıldığında, gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

4.5. NK Sitotoksik Aktivitesinin CD107a ve Granzim Salınımı ile Değerlendirilmesi

NK hücrelerinin sitotoksik aktivitesi, K562 eritromiyeloid lösemi hücre serisi ile akan hücre ölçer cihazında saptanmıştır. CD56_{soluk} NK hücrelerinde eksprese edilen CD107a oranı erken başlangıçlı astım hastalarında geç başlangıçlı olanlara kıyasla ve allerjik astım hastalarında allerjik olmayanlara kıyasla daha yüksek saptanmıştır (sırasıyla $p=0,05$ ve $p=0,01$) (Şekil 4-10). Total NK hücrelerinde ve CD56_{parlak} NK hücrelerinde gruplar arası fark tespit edilmemiştir.



Şekil 4-10: Astımlı hasta ve kontrollerde CD3- NK hücre popülasyonunda sitotoksik aktivitenin CD107a ekspresyonu ile değerlendirilmesi

5. TARTIŞMA

Obezite, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar ve bazı kanser tipleri dışında, astım gelişimi için de bilinen ve kabul edilen temel bir risk faktörüdür [3]. Ayrıca, diğer astım tiplerinden daha ağır seyreden, klasik astım tedavisine az yanıt veren bir fenotip olan geç başlangıçlı obezite astımının bilinen en önemli nedenidir [128]. Obez astım hayvan modellerinde doğal immünitinin etkisini irdeleyen çok sayıda araştırma mevcuttur. Ancak insanlarda obezite, erişkin astımı ve NK hücreleri ile ilgili yapılan çalışmalar oldukça nadir, sonuçları açısından çelişkilidir [129, 79, 130]. Bu çalışmada, fenotipik özellikleri iyi belirlenmiş farklı alt tiplerdeki obezite astımı hastalarında NK hücre özellikleri incelenmiştir.

Hastalar çalışmaya dahil edilirken, allerji testi sonuçları, astım başlangıç yaşı, güncel kiloları kaydedilmiş, 12 yaştan sonra başlayan astım geç başlangıçlı astım olarak sınıflanmıştır. Demografik verilerin karşılaştırılması sırasında, literatür ile uyumlu olarak, geç başlangıçlı astım grubunun tümünün kadın olduğu ve erken başlangıçlı gruba kıyasla allerjinin bu grupta daha az olduğu tespit edilmiştir [79]. Günümüzde obezite astımında başlangıç yaşına göre ayırım, genel olarak kabul gören bir yaklaşım olsa da, ülkemizdeki kayıt sisteminin yeterli olmaması nedeniyle hasta ifadelerine başvurulmuş ve gruplanmada zorluk çekilmiştir. Bu sebeple güncel klinik bulgularla uyumlu allerji testi sonuçları ile hastalar yeniden sınıflanmış ve analizler tekrarlanmıştır. Ayrıca geç başlangıçlı astım grubunun tamamının kadın olması nedeniyle, sonuçların cinsiyet farklılıklarından etkilenebileceği de düşünülmüştür. Literatürde, östrojenin NK sayı ve aktivitesi üzerine etkili olduğu, ancak etki mekanizmasının bilinmediği ve etki sonucunun tartışmalı olduğu bildirilmiştir [131, 132].

Çalışmamızda, stabil dönemde, periferik kan NK hücreleri ve alt grup oranları açısından, erken, geç başlangıçlı obezite astımı ve obez kontroller arasında fark tespit edilmemiştir. Verilerimizi karşılaştırabileceğimiz, erişkin obezite astımında NK düzeylerini değerlendiren başka bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak bir çalışmada pediatrik grupta, astım atağında NK hücre alt tipleri değerlendirilmiş ve steroid içeren tedavi sonrasında stabil dönemdeki değerler ile kıyaslanmıştır [133]. Atak döneminde, periferik kan CD56+ NK hücre yüzdesinin arttığı tespit edilmiştir. Ancak bu çalışmada, kıyaslanan verilerin steroid tedavisi sonrası veriler olması nedeniyle, gerçek bulguları

yansıtamayabileceği düşünülmektedir. Yakın tarihli bir diğer çalışmada, fiks havayolu obstrüksiyonu olan astımlılar, reversibilitesi olan astımlılar ile, tüm periferik sitotoksik hücrelerin ve reseptörlerinin yüzdelere göre karşılaştırılmış, ancak herhangi bir parametrede anlamlı fark tespit edilmemiştir. [130]. Bahr ve arkadaşları, obez bireylerin NK hücreleri, alt grupları, reseptörleri ve hücre içi sitokinlerini, normal kilolu bireyler ile karşılaştırmışlardır [134]. Bu araştırmada yine, hücre yüzdeleri arasında fark görülmemesine karşılık, obez bireylerde CD56_{soluk}/CD56_{parlak} hücre oranının azaldığı gösterilmiştir.

NK hücrelerinde erken aktivite göstergesi olan CD69 ekspresyonunun artışının, artmış sitotoksik aktivite ile ilişkili olduğu bilinmektedir [135]. Obez bireylerde CD69 aktivitesinin arttığını ve azaldığını gösteren çalışmalar da mevcuttur [125, 134]. Çalışmamızda, CD69 aktivitesi açısından gruplar arasında fark tespit edilmemiştir. Ancak IL-12 ile stimüle koşulda, VKİ ile CD69 arasında negatif korelasyon olduğu görülmüştür ($p=0,022$, $r=-0,534$). Bu durum, tüm obez hastalarda, sitotoksik aktiviteyi artırması beklenen IL-12 stimülasyonu sonrası, VKİ artışının sitotoksisiteyi azalttığını göstermektedir [136]. Geç başlangıçlı ve allerjik olmayan obezite astımlı hastaların sitotoksisite açısından zayıf olduğunu gösteren diğer bir veri ise, çalışmamızda, NK hücrelerinin sitotoksik aktivitesinin önemli bir belirteci olan CD107a ekspresyonunun, bu hücre alt gruplarında, erken başlangıçlı ya da allerjik astımlılara kıyasla düşük olduğunun tespit edilmesi olmuştur [137]. Tüm bu veriler ışığında, NK sitotoksisitesi yetersiz olan bu astım alt tipinde steroid tedavisinin başarısız olma nedenine ışık tutar niteliktedir. Özellikle ağır astımda, doğal immünite ile ilişkili olarak, steroid tedavilerinin persistan havayolu enflamasyonuna sebep olabileceğini düşündürmektedir [122].

Çalışmamızda, aktivasyonu yansıtan CD69 ve CD107a ekspresyonlarına ek olarak, NK hücre reseptörleri de incelenmiştir. NKG2D reseptörü sitotoksik aktiviteyi ve sitokin salınımını tetikleyen bir reseptördür [138]. Yapılan çalışmalar NKG2D ekspresyonunun, hücrelerin leptin ile inkübasyonu sonrasında azaldığını göstermiştir [51]. Diyet ile obezite geliştirilmiş farelerde NKG2D mRNA ekspresyonu splenik dokuda azalmış ve bu durum tümör gelişimi ve metastaza yatkınlığa sebep olmuştur [139]. Ancak obez kişilerde, normal kilolu olanlarla kıyaslandığında, periferik kanda NKG2D eksprese eden hücrelerin arttığını ya da değişmediğini gösteren araştırmalar da

mevcuttur [140, 134]. Astımda ise özellikle, ev tozu ile oluşturulan allerjik astım fare modelinde NKG2D'nin anahtar rol oynadığı gösterilmiştir [141]. Çalışmamızda astımlı obez grubunda, NK hücre alt tipinden bağımsız olarak, NKG2D reseptör ekspresyonunun astımı olmayanlara kıyasla daha düşük olduğu tespit edilmiştir. IL-12 ile stimüle koşulda ise, bu farkın CD56_{soluk} hücrelerde anlamlılık düzeyine ulaştığı görülmüştür.

Doğal sitotoksiste reseptörleri [Natural Cytotoxicity Receptors (NCRs)] arasında yer alan NKp44'ün aktivasyon ile eksprese olduğu, sonrasında aktivasyon ve inhibisyon sinyallerini birlikte iletebildiği bilinmektedir [142, 98]. Araştırmamızda NKp44 ekspresyonu açısından, her üç grup arasında fark olmamasına rağmen, IL-12 stimülasyonu ile erken başlangıçlı astım hastalarında ve kontrol grubunda NKp44 ekspresyon yüzdesinde, uyarımsız koşuldaki değerlere kıyasla anlamlı derecede artış görülmüş, ancak geç başlangıçlı astımda bu artış gözlemlenmemiştir. Bu durum, geç başlangıçlı astımlıları diğerlerinden ayıran ve yetersiz sitotoksisteyi yansıtan bir bulgu olarak görülmektedir. Yine benzer şekilde, IL-12 stimülasyonu sonucu CD56_{parlak} NK hücre popülasyonu sadece kontrol grubunda artış göstermiştir. Astımın dışında obezitenin de, özellikle metabolik olarak sağlıklı erişkin ve çocuklarda NK hücre fonksiyonlarını bozduğu ve serum IL-12 düzeyini azalttığı bildirilmiştir [123-125].

NK reseptörleri açısından araştırmamızda NKp46 reseptör ekspresyonu da incelenmiştir. Özellikle influenza virus enfeksiyonundaki önemi gösterilen NKp46'nın CD56_{soluk} hücrelerdeki ekspresyonu, obezite astımı (erken/geç başlangıçlı, allerjik/allerjik olmayan) gruplarında, kontrol grubuna kıyasla düşük tespit edilmiştir [143]. Bu düşük düzeyin, astımlıların önemli bir atak nedeni olan influenza enfeksiyonlarına yatkınlığına sebep olabileceği, obezite astımlılarında sık atak ve hastane başvurusu ile ilgili olabileceği düşünülmüştür.

Viral enfeksiyonların sebep olduğu astım ataklarının sıklığının kişilerin vücut kitle indeksleri ile korrele olduğu gösterilmiştir [144]. Obezite astımında viral enfeksiyonlara yatkınlığın, sık atakların, düşük IFN- γ düzeyi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Rinovirüs enfeksiyonu sırasında, bronş epitel hücrelerinde interferon üretimi ile ilişkili doğal immün yanıtın yetersiz olduğu tespit edilmiştir [145, 146]. Bu bulgulardan hareketle, astımlı olgularda virüslere bağlı atakların tedavisinde, inhale IFN- β uygulanmasını araştıran randomize kontrollü bir çalışma planlanmış, ancak bu

araştırma, hedefine ulaşmamış, bu yeni tedavi seçeneği astım atağı gelişimini engellememiştir [147]. Çalışmamızda, sitokin salınımından sorumlu CD56^{parlak} NK hücrelerinde IFN- γ ekspresyonu astımlılarda istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşmasa da daha düşük olarak tespit edilmiştir. Literatürde normal kilolulara kıyasla obez kişilerde, CD56^{parlak} hücrelerde IFN- γ düzeyinin arttığını gösteren veriler bulunmaktadır [134]. Bu durum astımın IFN- γ azaltıcı etkisini öne çıkarmaktadır. Ancak, obezite astımı olan grupta ve kontrollerde, IL-12 uyarımı ile, bazale göre hücre içi IFN- γ düzeyinde istatistiksel anlamlı düzeyde artış görülmektedir. Bu veri IL-12 uyarımının bu grupta bir tedavi stratejisi olarak ele alınabileceğini düşündürmektedir. Araştırmamızda, IL-12 uyarımı ile CD56^{parlak} hücrelerde, IFN- γ 'ya ek olarak, IL-10 düzeyinde de artış olduğu görülmüş, ancak bu artışın, sadece geç başlangıçlı astım grubunda olduğu tespit edilmiştir. Bu durum, astımda IL-10 düzeyinin düşük olduğunun bilinmesi nedeniyle IL-12 stimülasyonunun özellikle geç başlangıçlı obezite astımında yararlı olabileceği şeklinde yorumlanabilir. Yine IL-12 stimülasyonu sonrası allerjik astımlı grupta IL-17 ekspresyonu, allerjik olmayanlara kıyasla daha fazladır. Bu sonuç da genel literatürle benzerlik gösterir niteliktedir [148].

Çalışmamızın bazı kısıtlılıkları mevcuttur. Öncelikle hasta alımı sırasında güncel literatürde kabul gören, erken ve geç başlangıçlı astım tanımındaki belirsizlikler, ayrıca hastaların, astım başlangıç yaşı konusundaki çelişkileri nedenleriyle sıkıntılar yaşanmıştır. Oysa ki, allerjik olmayan grubun allerjik hale geçebileceği bildirilse de, allerji testlerine göre sınıflamanın daha objektif bir ayırım sağlayabileceği düşünülmüştür. Bunun dışında deneylerin, daha yüksek sayıda hasta grubu ile tekrarlanması istatistiksel anlamlılık sınırında kalan bazı verilerin yorumlanması açısından uygun olabilir. Geç başlangıçlı obezite astımı grubuna dahil edilen olguların, literatürdeki verilere uygun şekilde, tamamının kadın olması yine bu grupta tespit edilen bulguların, hormonal farklılıklardan etkilenebileceğini düşündürmektedir. Ancak erişkin astımında, alt tiplerden bağımsız olarak, kadın cinsiyetin ağırlıklı olduğu bilinen bir durumdur ve tüm astım çalışmalarında engellenemeyen bir seçim yanlılığı (bias) olarak kabul edilmektedir [149]. Ayrıca astımın, asıl enflamasyonunun bronş dokusunda ve drene olduğu lenf nodlarında gerçekleşmesi nedeniyle periferik kandaki incelemelerin lokal çevreyi yansıtmayabileceği düşünülmüştür [150]. Fakat günümüzde sistemik monoklonal tedavilerin, özgün endotipik enflamasyonu hedef alması nedeniyle, sistemik enflamasyonun periferik kan aracılığı ile incelenmesinin de önemli bir yeri

mevcuttur. Astım şiddetinin ve NKG2D başta olmak üzere NK reseptörleri ve fonksiyonlarının, periferik kan eozinofil sayısı ve fonksiyonları ile ilişkili olabildiği bilinmektedir [120]. Ancak çalışmamızın amacı, NK hücrelerinin obezite astımında incelenmesi olması nedeniyle, bu hücre grubunun dışına çıkılmamıştır.

Sonuç olarak, tüm alt tipleri ile obezite ve astım birlikteliğinin, farklı tedavi stratejileri gerektiren ayrı bir hastalık olarak değerlendirilmesi gerektiği, bu farklılıkta doğal immünitinin anahtar hücreleri olan NK hücrelerinin önemli yeri olduğu düşünülmektedir. Çalışmamız, obezite astımında, artmış atak sıklığı ve etkinliği yeterli olmayan tedavi yöntemlerinin nedenlerine ışık tutar niteliktedir. Araştırmamızın sonuçları, obezite astımında NK hücrelerinin, CD69, CD107a ve NKp44 reseptörü ekspresyonları göz önüne alındığında, sitotoksik aktivite açısından yetersiz olduğunu doğrulamaktadır. Astım genel olarak, inhale steroid dozunun arttırılması stratejileri ve tedavi uyumunun sağlanması ile kontrol altına alınabilirken, bu fenotipte, bozulmuş sitotoksik aktivitenin, steroid tedavisi ile düzeltilemediği aksine, bozulabildiği düşündürmektedir. Ayrıca tekrarlayan atakların, yetersiz sitokin salınımı, IFN- γ düzeyi düşüklüğü ve bozulmuş NKp46 ekspresyonu ile ilgili olabileceği, bu eksikliğin de, inhale steroid başarısızlığına bir sebep olabileceği ön görülebilir. Bahsedilen kısıtlılıklarına rağmen, çalışmamız, immün baskılayıcı tedaviler yerine, IL-12 uyarımı benzeri, stimüle edici tedavilerin, bu astım fenotipinde, gelecekte önem kazanabileceğini öne sürmesi açısından önemlidir. Erken başlangıçlı, geç başlangıçlı, allerjik ve allerjik olmayan obezite astım fenotiplerinde, doğal immünitinin ne şekilde dengelenebileceği ile ilgili yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. GINA Report, Global Strategy for Asthma Management and Prevention. 2018. www.ginasthma.org.
2. Türk Toraks Derneği Astım Rehberi. Turkish Thoracic Journal. 2016; Supplement October(Volume 17).
3. Wenzel SE. Asthma phenotypes: the evolution from clinical to molecular approaches. *Nat Med*. 2012;18(5):716-25. doi:10.1038/nm.2678.
4. Leiria LO, Martins MA ve Saad MJ. Obesity and asthma: beyond T(H)2 inflammation. *Metabolism*. 2015;64(2):172-81. doi:10.1016/j.metabol.2014.10.002.
5. de Groot JC, Ten Brinke A ve Bel EH. Management of the patient with eosinophilic asthma: a new era begins. *ERJ Open Res*. 2015;1(1). doi:10.1183/23120541.00024-2015.
6. Masoli M, Fabian D, Holt S ve Beasley R, Global Initiative for Asthma P. The global burden of asthma: executive summary of the GINA Dissemination Committee report. *Allergy*. 2004;59(5):469-78. doi:10.1111/j.1398-9995.2004.00526.x.
7. Tug T ve Acik Y. Prevalence of asthma, asthma-like and allergic symptoms in the urban and rural adult population in Eastern Turkey. *Asian Pac J Allergy Immunol*. 2002;20(4):209-15.
8. Dinmezel S, Ogus C, Erengin H, Cilli A, Ozbudak O ve Ozdemir T. The prevalence of asthma, allergic rhinitis, and atopy in Antalya, Turkey. *Allergy Asthma Proc*. 2005;26(5):403-9.
9. Sakar A, Yorgancioglu A, Dinc G, Yuksel H, Celik P, Dagiildizi L ve ark. The prevalence of asthma and allergic symptoms in Manisa, Turkey (A western city from a country bridging Asia and Europe). *Asian Pac J Allergy Immunol*. 2006;24(1):17-25.
10. Celik G, Mungan D, Bavbek S, Sin B, Ediger D, Demirel Y ve ark. The prevalence of allergic diseases and atopy in Ankara, Turkey: a two-step population-based epidemiological study. *J Asthma*. 1999;36(3):281-90.
11. Baldacci S, Maio S, Cerrai S, Sarno G, Baiz N, Simoni M ve ark. Allergy and asthma: Effects of the exposure to particulate matter and biological allergens. *Respir Med*. 2015;109(9):1089-104. doi:10.1016/j.rmed.2015.05.017.

12. Bousquet J, Heinzerling L, Bachert C, Papadopoulos NG, Bousquet PJ, Burney PG ve ark. Practical guide to skin prick tests in allergy to aeroallergens. *Allergy*. 2012;67(1):18-24. doi:10.1111/j.1398-9995.2011.02728.x.
13. Bousquet J, Jeffery PK, Busse WW, Johnson M ve Vignola AM. Asthma. From bronchoconstriction to airways inflammation and remodeling. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;161(5):1720-45. doi:10.1164/ajrccm.161.5.9903102.
14. Chung KF. Airway smooth muscle cells: contributing to and regulating airway mucosal inflammation? *Eur Respir J*. 2000;15(5):961-8.
15. Rackemann FM. A working classification of asthma. *Am J Med*. 1947;3(5):601-6.
16. Haldar P, Pavord ID, Shaw DE, Berry MA, Thomas M, Brightling CE ve ark. Cluster analysis and clinical asthma phenotypes. *Am J Respir Crit Care Med*. 2008;178(3):218-24. doi:10.1164/rccm.200711-1754OC.
17. Green RH, Brightling CE, Woltmann G, Parker D, Wardlaw AJ ve Pavord ID. Analysis of induced sputum in adults with asthma: identification of subgroup with isolated sputum neutrophilia and poor response to inhaled corticosteroids. *Thorax*. 2002;57(10):875-9.
18. Lotvall J, Akdis CA, Bacharier LB, Björner L, Casale TB, Custovic A ve ark. Asthma endotypes: a new approach to classification of disease entities within the asthma syndrome. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127(2):355-60. doi:10.1016/j.jaci.2010.11.037.
19. Green RH ve Pavord I. Stability of inflammatory phenotypes in asthma. *Thorax*. 2012;67(8):665-7. doi:10.1136/thoraxjnl-2012-201657.
20. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA ve Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol*. 1986;136(7):2348-57.
21. Fahy JV. Type 2 inflammation in asthma--present in most, absent in many. *Nat Rev Immunol*. 2015;15(1):57-65. doi:10.1038/nri3786.
22. Spellberg B ve Edwards JE, Jr. Type 1/Type 2 immunity in infectious diseases. *Clin Infect Dis*. 2001;32(1):76-102. doi:10.1086/317537.

23. Woodruff PG, Modrek B, Choy DF, Jia G, Abbas AR, Ellwanger A ve ark. T-helper type 2-driven inflammation defines major subphenotypes of asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009;180(5):388-95. doi:10.1164/rccm.200903-0392OC.
24. Park H, Li Z, Yang XO, Chang SH, Nurieva R, Wang YH ve ark. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nat Immunol*. 2005;6(11):1133-41. doi:10.1038/ni1261.
25. McKinley L, Alcorn JF, Peterson A, Dupont RB, Kapadia S, Logar A ve ark. TH17 cells mediate steroid-resistant airway inflammation and airway hyperresponsiveness in mice. *J Immunol*. 2008;181(6):4089-97.
26. Robinson D, Humbert M, Buhl R, Cruz AA, Inoue H, Korom S ve ark. Revisiting Type 2-high and Type 2-low airway inflammation in asthma: current knowledge and therapeutic implications. *Clin Exp Allergy*. 2017;47(2):161-75. doi:10.1111/cea.12880.
27. Agache I, Ciobanu C, Agache C ve Anghel M. Increased serum IL-17 is an independent risk factor for severe asthma. *Respir Med*. 2010;104(8):1131-7. doi:10.1016/j.rmed.2010.02.018.
28. Dunican EM ve Fahy JV. Asthma and corticosteroids: time for a more precise approach to treatment. *Eur Respir J*. 2017;49(6). doi:10.1183/13993003.01167-2017.
29. Reddel HK, Taylor DR, Bateman ED, Boulet LP, Boushey HA, Busse WW ve ark. An official American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: asthma control and exacerbations: standardizing endpoints for clinical asthma trials and clinical practice. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009;180(1):59-99. doi:10.1164/rccm.200801-060ST.
30. World Health Organization. Body mass index - BMI. Health topics, Disease prevention, Nutrition, A healthy lifestyle, Body mass index - BMI. 2018. <http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/nutrition/a-healthy-lifestyle/body-mass-index-bmi>. Erişim tarihi 06.01.2019 2019.
31. World Health Organization. Obesity. 2019. <http://www.euro.who.int/en/health-topics/noncommunicable-diseases/obesity/obesity>. Erişim tarihi 06.01.2019 2019.
32. Finkelstein EA, Trogdon JG, Cohen JW ve Dietz W. Annual medical spending attributable to obesity: payer-and service-specific estimates. *Health Aff (Millwood)*. 2009;28(5):w822-31. doi:10.1377/hlthaff.28.5.w822.

33. Whitlock G, Lewington S, Sherliker P, Clarke R, Emberson J ve ark. Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. *Lancet*. 2009;373(9669):1083-96. doi:10.1016/S0140-6736(09)60318-4.
34. Tsai AG ve Wadden TA. In the clinic: obesity. *Ann Intern Med*. 2013;159(5):ITC3-1-ITC3-15; quiz ITC3-6. doi:10.7326/0003-4819-159-5-201309030-01003.
35. Watson RA, Pride NB, Thomas EL, Fitzpatrick J, Durighel G, McCarthy J ve ark. Reduction of total lung capacity in obese men: comparison of total intrathoracic and gas volumes. *J Appl Physiol* (1985). 2010;108(6):1605-12. doi:10.1152/jappphysiol.01267.2009.
36. Behazin N, Jones SB, Cohen RI ve Loring SH. Respiratory restriction and elevated pleural and esophageal pressures in morbid obesity. *J Appl Physiol* (1985). 2010;108(1):212-8. doi:10.1152/jappphysiol.91356.2008.
37. Tantisira KG ve Weiss ST. Complex interactions in complex traits: obesity and asthma. *Thorax*. 2001;56 Suppl 2:ii64-73.
38. Bullo M, Garcia-Lorda P, Megias I ve Salas-Salvado J. Systemic inflammation, adipose tissue tumor necrosis factor, and leptin expression. *Obes Res*. 2003;11(4):525-31. doi:10.1038/oby.2003.74.
39. Lumeng CN ve Saltiel AR. Inflammatory links between obesity and metabolic disease. *J Clin Invest*. 2011;121(6):2111-7. doi:10.1172/JCI57132.
40. Xu H, Barnes GT, Yang Q, Tan G, Yang D, Chou CJ ve ark. Chronic inflammation in fat plays a crucial role in the development of obesity-related insulin resistance. *J Clin Invest*. 2003;112(12):1821-30. doi:10.1172/JCI19451.
41. Thomas D ve Apovian C. Macrophage functions in lean and obese adipose tissue. *Metabolism*. 2017 Jul;72:120-143. doi: 10.1016/j.metabol.2017.04.005.
42. Gordon S ve Taylor PR. Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nat Rev Immunol*. 2005;5(12):953-64. doi:10.1038/nri1733.
43. Lumeng CN, Bodzin JL ve Saltiel AR. Obesity induces a phenotypic switch in adipose tissue macrophage polarization. *J Clin Invest*. 2007;117(1):175-84. doi:10.1172/JCI29881.

44. Wynn TA, Chawla A ve Pollard JW. Macrophage biology in development, homeostasis and disease. *Nature*. 2013;496(7446):445-55. doi:10.1038/nature12034.
45. Zuniga LA, Shen WJ, Joyce-Shaikh B, Pyatnova EA, Richards AG, Thom C ve ark. IL-17 regulates adipogenesis, glucose homeostasis, and obesity. *J Immunol*. 2010;185(11):6947-59. doi:10.4049/jimmunol.1001269.
46. Liu J, Divoux A, Sun J, Zhang J, Clement K, Glickman JN ve ark. Genetic deficiency and pharmacological stabilization of mast cells reduce diet-induced obesity and diabetes in mice. *Nat Med*. 2009;15(8):940-5. doi:10.1038/nm.1994.
47. Wu D, Molofsky AB, Liang HE, Ricardo-Gonzalez RR, Jouihan HA, Bando JK ve ark. Eosinophils sustain adipose alternatively activated macrophages associated with glucose homeostasis. *Science*. 2011;332(6026):243-7. doi:10.1126/science.1201475.
48. Nieman DC, Henson DA, Nehlsen-Cannarella SL, Ekkens M, Utter AC, Butterworth DE ve ark. Influence of obesity on immune function. *J Am Diet Assoc*. 1999;99(3):294-9. doi:10.1016/S0002-8223(99)00077-2.
49. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ ve Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol*. 2011;11(2):85-97. doi:10.1038/nri2921.
50. Nishimura S, Manabe I, Nagasaki M, Eto K, Yamashita H, Ohsugi M ve ark. CD8⁺ effector T cells contribute to macrophage recruitment and adipose tissue inflammation in obesity. *Nat Med*. 2009;15(8):914-20. doi:10.1038/nm.1964.
51. O'Shea D, Cawood TJ, O'Farrelly C ve Lynch L. Natural killer cells in obesity: impaired function and increased susceptibility to the effects of cigarette smoke. *PLoS One*. 2010;5(1):e8660. doi:10.1371/journal.pone.0008660.
52. Huebner L, Engeli S, Wrann CD, Goudeva L, Laue T ve Kielstein H. Human NK cell subset functions are differentially affected by adipokines. *PLoS One*. 2013;8(9):e75703. doi:10.1371/journal.pone.0075703.
53. Hales CM, Carroll MD, Fryar CD ve Ogden CL. Prevalence of Obesity Among Adults and Youth: United States, 2015-2016. *NCHS Data Brief*. 2017(288):1-8.
54. CDC. Asthma in the US. Vital signs. 2011.
55. Diaz J ve Farzan S. Clinical implications of the obese-asthma phenotypes. *Immunol Allergy Clin North Am*. 2014;34(4):739-51. doi:10.1016/j.iac.2014.07.008.

56. Camargo CA, Jr., Weiss ST, Zhang S, Willett WC ve Speizer FE. Prospective study of body mass index, weight change, and risk of adult-onset asthma in women. *Arch Intern Med.* 1999;159(21):2582-8.
57. Umetsu DT. Mechanisms by which obesity impacts upon asthma. *Thorax.* 2017;72(2):174-7. doi:10.1136/thoraxjnl-2016-209130.
58. Peters U, Dixon AE ve Forno E. Obesity and asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2018;141(4):1169-79. doi:10.1016/j.jaci.2018.02.004.
59. Black MH, Zhou H, Takayanagi M, Jacobsen SJ ve Koebsnick C. Increased asthma risk and asthma-related health care complications associated with childhood obesity. *Am J Epidemiol.* 2013;178(7):1120-8. doi:10.1093/aje/kwt093.
60. Taylor B, Mannino D, Brown C, Crocker D, Twum-Baah N ve Holguin F. Body mass index and asthma severity in the National Asthma Survey. *Thorax.* 2008;63(1):14-20. doi:10.1136/thx.2007.082784.
61. Shore SA. Obesity and asthma: possible mechanisms. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;121(5):1087-93; quiz 94-5. doi:10.1016/j.jaci.2008.03.004.
62. Singh VP, Aggarwal R, Singh S, Banik A, Ahmad T, Patnaik ve ark. Metabolic Syndrome Is Associated with Increased Oxo-Nitrative Stress and Asthma-Like Changes in Lungs. *PLoS One.* 2015;10(6):e0129850. doi:10.1371/journal.pone.0129850.
63. Showalter MR, Nonnecke EB, Linderholm AL, Cajka T, Sa MR, Lonnerdal B ve ark. Obesogenic diets alter metabolism in mice. *PLoS One.* 2018;13(1):e0190632. doi:10.1371/journal.pone.0190632.
64. Wood LG, Garg ML ve Gibson PG. A high-fat challenge increases airway inflammation and impairs bronchodilator recovery in asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;127(5):1133-40. doi:10.1016/j.jaci.2011.01.036.
65. Marsland BJ ve Gollwitzer ES. Host-microorganism interactions in lung diseases. *Nat Rev Immunol.* 2014;14(12):827-35. doi:10.1038/nri3769.
66. Trompette A, Gollwitzer ES, Yadava K, Sichelstiel AK, Sprenger N, Ngom-Bru C ve ark. Gut microbiota metabolism of dietary fiber influences allergic airway disease and hematopoiesis. *Nat Med.* 2014;20(2):159-66. doi:10.1038/nm.3444.

67. Dekkers BG, Schaafsma D, Tran T, Zaagsma J ve Meurs H. Insulin-induced laminin expression promotes a hypercontractile airway smooth muscle phenotype. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2009;41(4):494-504. doi:10.1165/rcmb.2008-0251OC.
68. Sharma N, Akkoyunlu M ve Rabin RL. Macrophages-common culprit in obesity and asthma. *Allergy.* 2018;73(6):1196-205. doi:10.1111/all.13369.
69. Schindler TI, Wagner JJ, Goedicke-Fritz S, Rogosch T, Coccejus V, Laudénbach V ve ark. TH17 Cell Frequency in Peripheral Blood Is Elevated in Overweight Children without Chronic Inflammatory Diseases. *Front Immunol.* 2017;8:1543. doi:10.3389/fimmu.2017.01543.
70. Cipolletta D. Adipose tissue-resident regulatory T cells: phenotypic specialization, functions and therapeutic potential. *Immunology.* 2014;142(4):517-25. doi:10.1111/imm.12262.
71. Han JM, Patterson SJ, Speck M, Ehses JA ve Levings MK. Insulin inhibits IL-10-mediated regulatory T cell function: implications for obesity. *J Immunol.* 2014;192(2):623-9. doi:10.4049/jimmunol.1302181.
72. Vortmann M ve Eisner MD. BMI and health status among adults with asthma. *Obesity (Silver Spring).* 2008;16(1):146-52. doi:10.1038/oby.2007.7.
73. Mosen DM, Schatz M, Magid DJ ve Camargo CA, Jr. The relationship between obesity and asthma severity and control in adults. *J Allergy Clin Immunol.* 2008;122(3):507-11 e6. doi:10.1016/j.jaci.2008.06.024.
74. Peters-Golden M, Swern A, Bird SS, Hustad CM, Grant E ve Edelman JM. Influence of body mass index on the response to asthma controller agents. *Eur Respir J.* 2006;27(3):495-503. doi:10.1183/09031936.06.00077205.
75. Boulet LP ve Franssen E. Influence of obesity on response to fluticasone with or without salmeterol in moderate asthma. *Respir Med.* 2007;101(11):2240-7. doi:10.1016/j.rmed.2007.06.031.
76. Murray CS, Canoy D, Buchan I, Woodcock A, Simpson A ve Custovic A. Body mass index in young children and allergic disease: gender differences in a longitudinal study. *Clin Exp Allergy.* 2011;41(1):78-85. doi:10.1111/j.1365-2222.2010.03598.x.
77. Forno E, Acosta-Perez E, Brehm JM, Han YY, Alvarez M, Colon-Semidey A ve ark. Obesity and adiposity indicators, asthma, and atopy in Puerto Rican children. *J Allergy Clin Immunol.* 2014;133(5):1308-14, 14 e1-5. doi:10.1016/j.jaci.2013.09.041.

78. Sutherland ER, Goleva E, King TS, Lehman E, Stevens AD, Jackson LP ve ark. Cluster analysis of obesity and asthma phenotypes. *PLoS One*. 2012;7(5):e36631. doi:10.1371/journal.pone.0036631.
79. Dixon AE, Pratley RE, Forgione PM, Kaminsky DA, Whittaker-Leclair LA, Griffes LA ve ark. Effects of obesity and bariatric surgery on airway hyperresponsiveness, asthma control, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;128(3):508-15 e1-2. doi:10.1016/j.jaci.2011.06.009.
80. Holguin F, Bleecker ER, Busse WW, Calhoun WJ, Castro M, Erzurum SC ve ark. Obesity and asthma: an association modified by age of asthma onset. *J Allergy Clin Immunol*. 2011;127(6):1486-93 e2. doi:10.1016/j.jaci.2011.03.036.
81. Sideleva O, Suratt BT, Black KE, Tharp WG, Pratley RE, Forgione P ve ark. Obesity and asthma: an inflammatory disease of adipose tissue not the airway. *Am J Respir Crit Care Med*. 2012;186(7):598-605. doi:10.1164/rccm.201203-0573OC.
82. Johnston RA, Theman TA, Lu FL, Terry RD ve Williams ES, Shore SA. Diet-induced obesity causes innate airway hyperresponsiveness to methacholine and enhances ozone-induced pulmonary inflammation. *J Appl Physiol* (1985). 2008;104(6):1727-35. doi:10.1152/japplphysiol.00075.2008.
83. de Nijs SB, Venekamp LN ve Bel EH. Adult-onset asthma: is it really different? *Eur Respir Rev*. 2013;22(127):44-52. doi:10.1183/09059180.00007112.
84. Miranda C, Busacker A, Balzar S, Trudeau J ve Wenzel SE. Distinguishing severe asthma phenotypes: role of age at onset and eosinophilic inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2004;113(1):101-8. doi:10.1016/j.jaci.2003.10.041.
85. Scott HA, Gibson PG, Garg ML ve Wood LG. Airway inflammation is augmented by obesity and fatty acids in asthma. *Eur Respir J*. 2011;38(3):594-602. doi:10.1183/09031936.00139810.
86. Dong GH, Qian Z, Liu MM, Wang D, Ren WH, Fu Q ve ark. Obesity enhanced respiratory health effects of ambient air pollution in Chinese children: the Seven Northeastern Cities study. *Int J Obes (Lond)*. 2013;37(1):94-100. doi:10.1038/ijo.2012.125.
87. Bennett WD, Ivins S, Alexis NE, Wu J, Bromberg PA, Brar SS ve ark. Effect of Obesity on Acute Ozone-Induced Changes in Airway Function, Reactivity, and

Inflammation in Adult Females. PLoS One. 2016;11(8):e0160030. doi:10.1371/journal.pone.0160030.

88. Dixon AE ve Poynter ME. Mechanisms of Asthma in Obesity. Pleiotropic Aspects of Obesity Produce Distinct Asthma Phenotypes. Am J Respir Cell Mol Biol. 2016;54(5):601-8. doi:10.1165/rcmb.2016-0017PS.

89. Aktas E, Erten G, Kucuksezer UC ve Deniz G. Natural killer cells: versatile roles in autoimmune and infectious diseases. Expert Rev Clin Immunol. 2009;5(4):405-20. doi:10.1586/eci.09.27.

90. Robertson MJ ve Ritz J. Biology and clinical relevance of human natural killer cells. Blood. 1990;76(12):2421-38.

91. Lanier LL, Le AM, Civin CI, Loken MR ve Phillips JH. The relationship of CD16 (Leu-11) and Leu-19 (NKH-1) antigen expression on human peripheral blood NK cells and cytotoxic T lymphocytes. J Immunol. 1986;136(12):4480-6.

92. Reyes AA, Small SJ ve Akeson R. At least 27 alternatively spliced forms of the neural cell adhesion molecule mRNA are expressed during rat heart development. Mol Cell Biol. 1991;11(3):1654-61.

93. Poli A, Michel T, Theresine M, Andres E, Hentges F ve Zimmer J. CD56bright natural killer (NK) cells: an important NK cell subset. Immunology. 2009;126(4):458-65. doi:10.1111/j.1365-2567.2008.03027.x.

94. Carrega P ve Ferlazzo G. Natural killer cell distribution and trafficking in human tissues. Front Immunol. 2012;3:347. doi:10.3389/fimmu.2012.00347.

95. Cooper MA ve Caligiuri MA. Isolation and characterization of human natural killer cell subsets. Curr Protoc Immunol. 2004; Bölüm 7: Ünite 7. 34. doi:10.1002/0471142735.im0734s60.

96. Deniz G, van de Veen W ve Akdis M. Natural killer cells in patients with allergic diseases. J Allergy Clin Immunol. 2013;132(3):527-35. doi:10.1016/j.jaci.2013.07.030.

97. Bryceson YT ve Ljunggren HG. Tumor cell recognition by the NK cell activating receptor NKG2D. Eur J Immunol. 2008;38(11):2957-61. doi:10.1002/eji.200838833.

98. Mandelboim O ve Porgador A. NKp46. Int J Biochem Cell Biol. 2001;33(12):1147-50.

99. Moretta A, Bottino C, Vitale M, Pende D, Cantoni C, Mingari MC ve ark. Activating receptors and coreceptors involved in human natural killer cell-mediated cytotoxicity. *Annu Rev Immunol.* 2001;19:197-223. doi:10.1146/annurev.immunol.19.1.197.
100. Vivier E, Raulet DH, Moretta A, Caligiuri MA, Zitvogel L, Lanier LL ve ark. Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells. *Science.* 2011;331(6013):44-9. doi:10.1126/science.1198687.
101. Huntington ND, Vosshenrich CA ve Di Santo JP. Developmental pathways that generate natural-killer-cell diversity in mice and humans. *Nat Rev Immunol.* 2007;7(9):703-14. doi:10.1038/nri2154.
102. Raulet DH. Roles of the NKG2D immunoreceptor and its ligands. *Nat Rev Immunol.* 2003;3(10):781-90. doi:10.1038/nri1199.
103. Bauer S, Groh V, Wu J, Steinle A, Phillips JH, Lanier LL ve ark. Activation of NK cells and T cells by NKG2D, a receptor for stress-inducible MICA. *Science.* 1999;285(5428):727-9.
104. Borchers MT, Harris NL, Wesselkamper SC, Zhang S, Chen Y, Young L ve ark. The NKG2D-activating receptor mediates pulmonary clearance of *Pseudomonas aeruginosa*. *Infect Immun.* 2006;74(5):2578-86. doi:10.1128/IAI.74.5.2578-2586.2006.
105. Deniz G, Akdis M, Aktas E, Blaser K ve Akdis CA. Human NK1 and NK2 subsets determined by purification of IFN-gamma-secreting and IFN-gamma-nonsecreting NK cells. *Eur J Immunol.* 2002;32(3):879-84. doi:10.1002/1521-4141(200203)32:3<879::AID-IMMU879>3.0.CO;2-2.
106. Yu G, Xu X, Vu MD, Kilpatrick ED ve Li XC. NK cells promote transplant tolerance by killing donor antigen-presenting cells. *J Exp Med.* 2006;203(8):1851-8. doi:10.1084/jem.20060603.
107. Saito S, Nakashima A, Myojo-Higuma S ve Shiozaki A. The balance between cytotoxic NK cells and regulatory NK cells in human pregnancy. *J Reprod Immunol.* 2008;77(1):14-22. doi:10.1016/j.jri.2007.04.007.
108. Deniz G, Erten G, Kucuksezer UC, Kocacik D, Karagiannidis C, Aktas E ve ark. Regulatory NK cells suppress antigen-specific T cell responses. *J Immunol.* 2008;180(2):850-7.

109. Pandya AD, Al-Jaderi Z, Hoglund RA, Holmoy T, Harbo HF, Norgauer J ve ark. Identification of human NK17/NK1 cells. *PLoS One*. 2011;6(10):e26780. doi:10.1371/journal.pone.0026780.
110. Ren J, Feng Z, Lv Z, Chen X ve Li J. Natural killer-22 cells in the synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis are an innate source of interleukin 22 and tumor necrosis factor-alpha. *J Rheumatol*. 2011;38(10):2112-8. doi:10.3899/jrheum.101377.
111. Eberl G, Colonna M, Di Santo JP ve McKenzie AN. Innate lymphoid cells. Innate lymphoid cells: a new paradigm in immunology. *Science*. 2015;348(6237):aaa6566. doi:10.1126/science.aaa6566.
112. Spits H, Artis D, Colonna M, Diefenbach A, Di Santo JP, Eberl G ve ark. Innate lymphoid cells--a proposal for uniform nomenclature. *Nat Rev Immunol*. 2013;13(2):145-9. doi:10.1038/nri3365.
113. Spits H, Bernink JH ve Lanier L. NK cells and type 1 innate lymphoid cells: partners in host defense. *Nat Immunol*. 2016;17(7):758-64. doi:10.1038/ni.3482.
114. Klose CS ve Artis D. Innate lymphoid cells as regulators of immunity, inflammation and tissue homeostasis. *Nat Immunol*. 2016;17(7):765-74. doi:10.1038/ni.3489.
115. Tait Wojno ED ve Artis D. Emerging concepts and future challenges in innate lymphoid cell biology. *J Exp Med*. 2016;213(11):2229-48. doi:10.1084/jem.20160525.
116. Kim HY, Lee HJ, Chang YJ, Pichavant M, Shore SA, Fitzgerald KA ve ark. Interleukin-17-producing innate lymphoid cells and the NLRP3 inflammasome facilitate obesity-associated airway hyperreactivity. *Nat Med*. 2014;20(1):54-61. doi:10.1038/nm.3423.
117. Makki K, Froguel P ve Wolowczuk I. Adipose tissue in obesity-related inflammation and insulin resistance: cells, cytokines, and chemokines. *ISRN Inflamm*. 2013;2013:139239. doi:10.1155/2013/139239.
118. Everaere L, Ait-Yahia S, Molendi-Coste O, Vorng H, Quemener S, LeVu P ve ark. Innate lymphoid cells contribute to allergic airway disease exacerbation by obesity. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;138(5):1309-18 e11. doi:10.1016/j.jaci.2016.03.019.
119. Jira M, Antosova E, Vondra V, Strejcek J, Mazakova H ve Prazakova J. Natural killer and interleukin-2 induced cytotoxicity in asthmatics. I. Effect of acute antigen-specific challenge. *Allergy*. 1988;43(4):294-8.

120. Timonen T ve Stenius-Aarniala B. Natural killer cell activity in asthma. *Clin Exp Immunol.* 1985;59(1):85-90.
121. Barnig C, Cernadas M, Dutile S, Liu X, Perrella MA, Kazani S ve ark. Lipoxin A4 regulates natural killer cell and type 2 innate lymphoid cell activation in asthma. *Sci Transl Med.* 2013;5(174):174ra26. doi:10.1126/scitranslmed.3004812.
122. Ple C, Barrier M, Amniai L, Marquillies P, Bertout J, Tsicopoulos A ve ark. Natural killer cells accumulate in lung-draining lymph nodes and regulate airway eosinophilia in a murine model of asthma. *Scand J Immunol.* 2010;72(2):118-27. doi:10.1111/j.1365-3083.2010.02419.x.
123. Duvall MG, Barnig C, Cernadas M, Ricklefs I, Krishnamoorthy N, Grossman NL ve ark. Natural killer cell-mediated inflammation resolution is disabled in severe asthma. *Sci Immunol.* 2017;2(9). doi:10.1126/sciimmunol.aam5446.
124. Lynch LA, O'Connell JM, Kwasnik AK, Cawood TJ, O'Farrelly C ve O'Shea DB. Are natural killer cells protecting the metabolically healthy obese patient? *Obesity (Silver Spring).* 2009;17(3):601-5. doi:10.1038/oby.2008.565.
125. Kim M, Kim M, Yoo HJ ve Lee JH. Natural Killer Cell Activity and Interleukin-12 in Metabolically Healthy versus Metabolically Unhealthy Overweight Individuals. *Front Immunol.* 2017;8:1700. doi:10.3389/fimmu.2017.01700.
126. Tobin LM, Mavinkurve M, Carolan E, Kinlen D, O'Brien EC, Little MA ve ark. NK cells in childhood obesity are activated, metabolically stressed, and functionally deficient. *JCI Insight.* 2017;2(24). doi:10.1172/jci.insight.94939.
127. Ulubay G, Dilektasli AG, Borekci S, Yildiz O, Kiyani E, Gemicioglu B ve ark. Turkish Thoracic Society Consensus Report: Interpretation of Spirometry. *Turk Thorac J.* 2019;20(1):69-89. doi:10.5152/TurkThoracJ.2018.180175.
128. Uysal MA, Mungan D, Yorgancioglu A, Yildiz F, Akgun M, Gemicioglu B ve ark. The validation of the Turkish version of Asthma Control Test. *Qual Life Res.* 2013;22(7):1773-9. doi:10.1007/s11136-012-0309-1.
129. Dixon AE, Holguin F, Sood A, Salome CM, Pratley RE, Beuther DA ve ark. An official American Thoracic Society Workshop report: obesity and asthma. *Proc Am Thorac Soc.* 2010;7(5):325-35. doi:10.1513/pats.200903-013ST.
130. Wei H, Zhang J, Xiao W, Feng J, Sun R ve Tian Z. Involvement of human natural killer cells in asthma pathogenesis: natural killer 2 cells in type 2 cytokine

predominance. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;115(4):841-7. doi:10.1016/j.jaci.2004.11.026.

131. Tubby C, Negm OH, Harrison T, Tighe PJ, Todd I ve Fairclough LC. Peripheral killer cells do not differentiate between asthma patients with or without fixed airway obstruction. *J Asthma.* 2017;54(5):456-66. doi:10.1080/02770903.2016.1236941.

132. Bouman A, Heineman MJ ve Faas MM. Sex hormones and the immune response in humans. *Hum Reprod Update.* 2005;11(4):411-23. doi:10.1093/humupd/dmi008.

133. Baldacara RP ve Silva I. Association between asthma and female sex hormones. *Sao Paulo Med J.* 2017;135(1):4-14. doi:10.1590/1516-3180.2016.011827016.

134. Lin SJ, Chang LY, Yan DC, Huang YJ, Lin TJ ve Lin TY. Decreased intercellular adhesion molecule-1 (CD54) and L-selectin (CD62L) expression on peripheral blood natural killer cells in asthmatic children with acute exacerbation. *Allergy.* 2003;58(1):67-71.

135. Bahr I, Jahn J, Zipprich A, Pahlow I, Spielmann J ve Kielstein H. Impaired natural killer cell subset phenotypes in human obesity. *Immunol Res.* 2018;66(2):234-44. doi:10.1007/s12026-018-8989-4.

136. Zingoni A, Palmieri G, Morrone S, Carretero M, Lopez-Botel M, Piccoli M ve ark. CD69-triggered ERK activation and functions are negatively regulated by CD94 / NKG2-A inhibitory receptor. *Eur J Immunol.* 2000;30(2):644-51. doi:10.1002/1521-4141(200002)30:2<644::AID-IMMU644>3.0.CO;2-H.

137. Gately MK, Renzetti LM, Magram J, Stern AS, Adorini L, Gubler U ve ark. The interleukin-12/interleukin-12-receptor system: role in normal and pathologic immune responses. *Annu Rev Immunol.* 1998;16:495-521. doi:10.1146/annurev.immunol.16.1.495.

138. Alter G, Malenfant JM ve Altfeld M. CD107a as a functional marker for the identification of natural killer cell activity. *J Immunol Methods.* 2004;294(1-2):15-22. doi:10.1016/j.jim.2004.08.008.

139. Farag SS ve Caligiuri MA. Human natural killer cell development and biology. *Blood Rev.* 2006;20(3):123-37. doi:10.1016/j.blre.2005.10.001.

140. Dowell AC, Oldham KA, Bhatt RI, Lee SP ve Searle PF. Long-term proliferation of functional human NK cells, with conversion of CD56(dim) NK cells to a CD56

- (bright) phenotype, induced by carcinoma cells co-expressing 4-1BBL and IL-12. *Cancer Immunol Immunother*. 2012;61(5):615-28. doi:10.1007/s00262-011-1122-3.
141. O'Rourke RW, Gaston GD, Meyer KA, White AE ve Marks DL. Adipose tissue NK cells manifest an activated phenotype in human obesity. *Metabolism*. 2013;62(11):1557-61. doi:10.1016/j.metabol.2013.07.011.
 142. Farhadi N, Lambert L, Triulzi C, Openshaw PJ, Guerra N ve Culley FJ. Natural killer cell NKG2D and granzyme B are critical for allergic pulmonary inflammation. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133(3):827-35 e3. doi:10.1016/j.jaci.2013.09.048.
 143. Bowen KE, Mathew SO, Borgmann K, Ghorpade A ve Mathew PA. A novel ligand on astrocytes interacts with natural cytotoxicity receptor NKp44 regulating immune response mediated by NK cells. *PLoS One*. 2018;13(2):e0193008. doi:10.1371/journal.pone.0193008.
 144. Gazit R, Gruda R, Elboim M, Arnon TI, Katz G, Achdout H ve ark. Lethal influenza infection in the absence of the natural killer cell receptor gene *Ncr1*. *Nat Immunol*. 2006;7(5):517-23. doi:10.1038/ni1322.
 145. Schatz M, Zeiger RS, Zhang F, Chen W, Yang SJ ve Camargo CA, Jr. Overweight/obesity and risk of seasonal asthma exacerbations. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2013;1(6):618-22. doi:10.1016/j.jaip.2013.07.009.
 146. Wark PA, Johnston SL, Bucchieri F, Powell R, Puddicombe S, Laza-Stanca V ve ark. Asthmatic bronchial epithelial cells have a deficient innate immune response to infection with rhinovirus. *J Exp Med*. 2005;201(6):937-47. doi:10.1084/jem.20041901.
 147. Contoli M, Message SD, Laza-Stanca V, Edwards MR, Wark PA, Bartlett NW ve ark. Role of deficient type III interferon-lambda production in asthma exacerbations. *Nat Med*. 2006;12(9):1023-6. doi:10.1038/nm1462.
 148. Djukanovic R, Harrison T, Johnston SL, Gabbay F, Wark P, Thomson NC ve ark. The effect of inhaled IFN-beta on worsening of asthma symptoms caused by viral infections. A randomized trial. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014;190(2):145-54. doi:10.1164/rccm.201312-2235OC.
 149. Raeiszadeh Jahromi S, Mahesh PA, Jayaraj BS, Madhunapantula SR, Holla AD, Vishweswaraiah S ve ark. Serum levels of IL-10, IL-17F and IL-33 in patients with asthma: a case-control study. *J Asthma*. 2014;51(10):1004-13. doi:10.3109/02770903.2014.938353.

150. Strachan DP, Butland BK ve Anderson HR. Incidence and prognosis of asthma and wheezing illness from early childhood to age 33 in a national British cohort. *BMJ*. 1996;312(7040):1195-9. doi:10.1136/bmj.312.7040.1195.
151. Haspeslagh E, van Helden MJ, Deswarte K, De Prijck S, van Moorlegheem J, Boon L ve ark. Role of NKp46(+) natural killer cells in house dust mite-driven asthma. *EMBO Mol Med*. 2018;10(4). doi:10.15252/emmm.201708657.



FORMLAR

Fluorelleneri Yolu Şişyer 34450 İstanbul, Turkey T: +90 212 338 10 00 F: +90 212 338 12 05 www.koc.edu.tr



Koç Üniversitesi Alerji ve Göğüs Hastalıkları Bilgilendirilmiş Onam Formu

Sorumlu Araştırmacı:	Dr. Leyla Pur Özyiğit
Araştırma Başlığı:	Obezite ilişkili astım patogenezi; vücut kitle indeksi ve doğal öldürücü hücre alt grupları

TANIM: Sizi astım ile ilgili planlamış olduğumuz çalışmamıza katılmaya davet ediyoruz. Bu çalışmada astımı olan hastalarımızın bağışıklık sistemlerinin kan testleri ile değerlendirilmesi planlanmaktadır. Çalışmamızda katılımcılardan iki tüp kan alınıp, kandaki bazı belirteçler ölçülecek ve yaşam kalitelerini değerlendirmeye yönelik sorular sorulacaktır. Bu çalışmada kilo ile ilişkili astımlıların bağışıklık sistemlerindeki değişikliklerin incelenmesi planlanmaktadır..

İŞLEM: Sizden iki tüp kan vermeniz beklenmektedir. Kan örneğinizin saklandığı tüpün üzerine size çalışma sırasında verilen protokol numarası yazılacak ve laboratuvarında değerlendirilecektir. Elde edilen kan tahlili sonuçları ve vermiş olduğunuz bilgiler sadece bilimsel çalışma amacı ile kullanılacaktır. Genetik çalışmalar gerçekleştirilmeyecektir. Kanınız size açıklanan çalışma dışında bir çalışma için kullanılmayacaktır.

RİSKLER ve YARARLAR: Bu çalışmaya dahil olmayı kabul ettiğinizde almış olduğunuz risk kan alım yerinde oluşabilecek sıızlama ve moramadır. Hemşirelerimizin deneyimi ile bu riski en aza indirmeyi planlamaktayız. Çalışmamızda gizlilik haklarınıza saygı gösterilecektir. Çalışma bilgileri sadece sorumlu araştırmacı ve diğer araştırmacıların giriş yapabildiği kilitli bir bilgisayarda saklanacaktır. Çalışmanın astım hastalığının kilo ile olan ilişkisini anlaşılmasına yarar sağlamanı beklememekteyiz. Bu çalışmada sizden bilime katkı sağlamanız beklenmektedir.

GEREKLİ ZAMAN: Bu çalışma için sizden istenen zaman kan alımı ve değerlendirme göz önüne alındığında toplam 1 saattir.

ÖDEME: Bu çalışma için sizden bir ücret talep edilmemektedir. Çalışma için size bir ücret ödenmeyecektir.

HAKLARINIZ: Eğer bu formu okuyup bu çalışmaya katılmayı kabul ediyorsanız, bu katılımınızın tamamen sizin bilgilendirilmiş olurunuz ile gönüllü olarak gerçekleştiğini bilmenizi isteriz. Bu formu imzaladıktan sonra istediğiniz zaman çalışmadan çıkma hakkınızı koruyorsunuz. Çalışmadan çıkmak istemeniz takdirde doktorunuzla olan hasta-doktor ilişkisinde herhangi bir değişiklik olmayacaktır, hastalığınız ve takibinizde herhangi bir kötü etkilenme kesinlikle gerçekleşmeyecektir.

Bu çalışmanın sonuçları bilimsel toplantılarda sunulabilir ya da bilimsel dergilerde makale şeklinde yayımlanabilir. Ancak bu bilimsel paylaşımlar sırasında sizin kişisel bilgileriniz saklanacak, gizlilik ilkelerine kesinlikle uyulacaktır.

GENEL

Rumelifonari Yolu Sanyar 34450 İstanbul, Turkey T: +90 212 338 10 00 F: +90 212 338 12 05 www.koc.edu.tr



Bu bilimsel çalışma sırasında aşağıda ismini okuyacağınız kişiler sizin sonuçlarınıza erişim hakkına sahip olacaklardır.

- Araştırmacılar: Dr. Leyla Pur Özyiğit, Prof. Dr. Günnur Deniz, Doç. Dr. Esin Aktaş, Dr. Ayşe Bilge Öztürk

Okuyup imzalamış olduğunuz bu formun bir kopuyası size saklamanız için verilecektir.

Katılımcının ismi:

Katılımcının İmzası

Tarih

Olam alan kişinin ismi:

Onam alan kişinin imzası

İLETİŞİM BİLGİSİ:

Çalışma ile ilgili sorularınız, merak ettikleriniz ya da şikayetleriniz için ya da daha detaylı bilgi almak için Dr. Leyla Pur Özyiğit (0532 237 13 45) 'u arayabilirsiniz. Çalışma ile ilgili bir zarar gördüğünüzü düşündüğünüzde lütfen bu kişilere hemen bilgi veriniz.

GENEL

ETİK KURUL KARARI

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Obezite ilişkili astım patogenezi; vücut kitle indeksi ve doğal öldürücü hücre alt grupları
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	2015.049.IRB1.010

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	17.02.2015	1	Türkçe ☒	İngilizce ☐	Diğer ☐
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	17.02.2015	1	Türkçe ☒	İngilizce ☒	Diğer ☐
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe ☐	İngilizce ☐	Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı		Açıklama			
	SİGORTA	☐				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☐				
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	☐				
	İLAN	☐				
	YILLIK BİLDİRİM	☐				
	SONUÇ RAPORU	☐				
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	☐				
	DİĞER:	☐				
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2015.049.IRB1.010	Tarih: 30.03.2015				
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu ile karar verilmiştir. Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.					

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Sedat Hakan Orer

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişkisi		Katılım *		İmza
Prof. Dr. Sedat Hakan Orer	Farmakoloji	Koç Üniversitesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Prof. Dr. Mehmet Demirhan	Ortopedi	Koç Üniversitesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Prof. Dr. Bülent Urman	Kadın Hastalıkları ve Doğum	Koç Üniversitesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Prof. Dr. Önder Ergönül	Enfeksiyon Hastalıkları ve Halk Sağlığı	Koç Üniversitesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Prof. Dr. Dursun Buğra	Genel Cerrahi	Koç Üniversitesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Prof. Dr. Moiş Bahar	Anestezi ve Reanimasyon	Amerikan Hastanesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Prof. Dr. Zafer Gören	Farmakoloji	Marmara Üniversitesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Dr. Barış Çakır	Fizyoloji	Koç Üniversitesi	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Prof. Dr. Nadiye Pınar Ay	Halk Sağlığı	Marmara Üniversitesi	E ☐ K ☒	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Müh. Erdal Yıldırım	Mühendis	Vehbi Koç Vakfı	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	
Av. Kenan Yılmaz	Avukat	Koç Holding	E ☒ K ☐	E ☐ H ☒	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	E ☐ H ☐	

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Sedat Hakan Orer
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

OBEZİTE İLİŞKİLİ ASTIM PATOGENEZİ; VÜCUT KİTLE İNDEKSİ VE DOĞAL ÖLDÜRÜCÜ HÜCRE ALT GRUPLARI

ORIJİNALLIK RAPORU

% 9	% 8	% 3	% 6
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	tez.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 1
2	www.yumpu.com İnternet Kaynağı	% 1
3	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	% 1
4	www.scintila.cz İnternet Kaynağı	% 1
5	hayriyekarabulut.com İnternet Kaynağı	<% 1
6	Ilhan Tahrali, Umut Can Kucuksezer, Ayse Altintas, Ugur Uygunoglu, Nilgun Akdeniz, Esin Aktas Cetin, Gunnur Deniz. "Dysfunction of CD3 – CD16 + CD56 dim and CD3 – CD16 – CD56 bright NK cell subsets in RR-MS patients", Clinical Immunology, 2018 Yayın	<% 1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Sabiha Leyla	Soyadı	Pur Özyiğit
Doğ.Yeri	İstanbul	Doğ.Tar.	17.09.1979
Uyruğu	T.C.	TC Kim No	26027019962
Email	leypapur@gmail.com	Tel	0532 237 13 45

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Uzmanlık	İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi- Göğüs Hastalıkları	2010
Doktora	İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi	2004
Lise	Saint Joseph Fransız Lisesi	1998

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Uzman Doktor	Leicester Üniversitesi Tıp Fakültesi	2019-...
2.	Doç. Dr.	Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi	2017-2019
3.	Uzm. Dr.-Öğretim üyesi	Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi	2014-2017
4.	Uzm. Dr.	Muş Devlet Hastanesi	2010-2011

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	ÜDS Puanı	IELTS Puanı
Fransızca	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi	97.5	(-)
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi	92.5	7.5

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	83.722	83.378	67.197

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Yayınlar

- **Ozyigit LP**, Aktas EC, Senbas ZA, Ozturk AB, Ozturk E, Ergonul MO, Tabak L, Ferhanoglu B, Cetiner M, Deniz G. The role of atopy in the pathogenesis of bleomycin pulmonary toxicity. Respir Med. 2019 Aug;155:1-5. doi: 10.1016/j.rmed.2019.06.020.
- Karim HMR, Esquinas AM, Ziatabar S, et al. Continuous Positive Airway

Pressure in Non-Apneic Asthma: A Clinical Review of the Current Evidence.
Turk Thorac J 2019; DOI: 10.5152/TurkThoracJ.2019.19049

- Öztürk AB, **Özyiğit LP**, Şener Ü, Özyıldırım A, İliaz S, Çağlayan B, Tabak L. Reporting Adverse Drug Reactions in a Tertiary Care Hospital in İstanbul. Turk Thorac J. 2018 Oct;19(4):237-239. doi: 10.5152/TurkThoracJ.2018.18048.
- Öztürk E, **Özyiğit LP**, Öztürk AB, Akay MO, Çetiner M, Ferhanoğlu B. *Rituximab desensitization in three patients with severe rituximab allergy* 2017 Sep - Oct;41(5):349-354.
- A Baygül, AB Öztürk, **LP Özyiğit**, H Keskin, G Karakaya, F Kalyoncu, M Ş Şenocak *The Reliability and Validation of Turkish Version of Asthma Self-Management Knowledge Questionnaire* Turk Thorac J. 2017 Oct;18(4):125-130.
- Çetin E., **Pur L.**, Gelmez M.Y., Çakir E., Gedik A.H., Deniz G., "CD163 Levels, Pro- and Anti-inflammatory Cytokine Secretion of Monocytes in Children with Pulmonary Tuberculosis ", Paediatric Pulmonology, vol.52, pp.675-683, 2016
- İliaz S, Aslan G, Öztürk AB, **Pur Ozyigit L**, Tabak L. *A rare case of right sided pulmonary artery agenesis associated with congenital mitral valve prolapse.* Tuberk Toraks. 2016 Jun;64(2):179-181.
- Pur Ozyigit, L.; Erer, A.; Okumuş, G.; Çağatay, T. ; Kıyan, E. ; Erkan, F. *Nebulized lidocaine as an alternative therapy for reactive airway dysfunction syndrome.* Turkish Thoracic Journal . 2016, Vol. 17 Issue 2, p82-83. 2p
- Picard M, **Pur L**, Caiado J, Giavina-Bianchi P, Galvão VR, Berlin ST, Campos SM, Matulonis UA, Castells MC. *Risk stratification and skin testing to guide re-exposure in taxane-induced hypersensitivity reactions.* J Allergy Clin Immunol. 2015 Dec 23. pii: S0091-6749(15)01677-2.
- Korucu E, Pur **Ozyigit L**, Ortakoylu MG, Bahadır A, Akalin ES, Kara A, Uzun H, Onal B, Caglar E. *Cathelicidin as a link between sarcoidosis and tuberculosis.* Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis. 2015 Sep 14;32:222-7
- Biçer EN, Ozturk AB, **Ozyigit LP**, Erus S, Tanju S, Dilege Ş, Tabak L. *A case of uncontrolled severe asthma patient with coexisting carcinoid tumor*

presenting as pneumomediastinum. J Asthma. 2015 Aug 18:1-4.

- **Ozyigit LP.** Öztürk AB, Keskin H. *Allergic asthma: Differences in characteristics between younger and older patients.* Revue Française d'Allergologie 08/2015
- **Ozyigit LP,** Morita H, Akdis M. *Innate lymphocyte cells in asthma phenotypes.* Clin Transl Allergy. 2015 Jul 6;5:23.
- Ozturk AB, **Özyigit LP.** *Familial kiwi fruit allergy: a case report.* Allergol Int. 2015 Apr;64(2):190-1
- Ozturk AB, **Ozyigit LP,** Olmez MO. *Clinical and allergic sensitization characteristics of allergic rhinitis among the elderly population in Istanbul, Turkey.* Eur Arch Otorhinolaryngol. 2015 Apr;272(4):1033-5
- **Pur Ozyigit L,** Ozcelik B, Ozcan Ciloglu S., Erkan F. *The effectiveness of a pictorial asthma action plan for improving asthma control and the quality of life in illiterate women.* J Asthma May;51(4):423-8.
- **Pur Ozyigit L ,** Ozyigit T., Cuhadaroğlu C et al. *A pilot study - acute beneficial effects of smoking cessation on coronary flow reserve.* Anatolian Cardiology Journal 2014 May; 14: 294-5.
- P. Giavina-Bianchi, J. Caiado, M. Picard, **L. Pur Ozyigit,** V. Mezzano and M. Castells. *Rapid desensitization to chemotherapy and monoclonal antibodies is effective and safe.* Correspondance Allergy 68 (2013) 1482–1486
- Buyukozturk S, Gelincik A, Demirtürk M, Erdoğan D, **Pur L,** Colakoğlu B, Deniz G, Erdem Kuruca S. *Nickel dental alloys can induce laryngeal edema attacks: A case report.* J Dermatol. 2013 Jul 9
- **L. P. Ozyigit,** C. Galera, P.-J. Bousquet, C. Piot, P. Demoly. *Rush aspirin desensitization protocol in aspirin hypersensitivity* Revue française d'allergologie 51 (2011) 485–491
- **L. Pur Ozyigit,** C. Galera, C. Defrance, Z. Kilicaslan, P. Demoly. *Allergy to antituberculosis drugs, a pragmatic approach: Tolerance induction to Rifater.* Revue française d'allergologie 2011 June.
- Siret-Alatrasta, **L. Pur Ozyigit,** M. Rubio, M. Demoly, H. Alatrasta-Salas, P.-J. Bousquet, P. Demoly. *Egg food allergy at the University Hospital of*

Montpellier: Our experience. Revue française d'allergologie 2011 Jan.

- Gülfer Okumuş, Koray Güven, Esen Kıyan, **Leyla Pur Özyiğit**, Namşan Yıldız, Mustafa Erelel, Halim İşsever, Orhan Arseven. *Early and long term results of bronchial artery embolization. Turkish J Thorac Cardiovasc Surg* 2010
- Tulin Cagatay, Zeki Kilicaslan, Penbe Cagatay, Munevver Mertsoylu, Ziya Gulbaran, Reyhan Yildiz, **Leyla Pur**, Sevil Kamali, Ahmet Gul. *TNF-alpha antagonist therapy modify the tuberculin skin test response. Rheumatol Int.* 2010 Mar.
- Galera C, **Pur Ozygit L**, Cavigioli S, Bousquet PJ, Demoly P. *Gadoteridol-induced anaphylaxis - not a class allergy. Allergy.* 2009 Oct.
- **Ozyigit LP**, Kıyan E, Okumus G, Yilmazbayhan D. *Isolated laryngo-tracheal amyloidosis presenting as a refractory asthma and longstanding hoarseness. J Asthma.* 2009 Apr.

Sertifikalar:

- American Thoracic Society, MECOR (Methods in Epidemiology, Clinical and Operational Research) Kursu Seviye 3-4, İzmir, 2015
- American Thoracic Society MECOR (Methods in Epidemiology, Clinical and Operational Research) Kursu Seviye 2, İzmir, 2014
- 5th International Summer Course, Research Methodology and Ethics in Health Sciences, Koç University, School of Medicine, Istanbul, Turkey 2014
- İlaç Desensitizasyonu Sertifikası, Harvard Üniversitesi, Brigham Women Hastanesi, Allerji ve immünoloji Bölümü, Boston, 2013
- Akan Hücre Ölçer Akım Sitometrisi Sertifikası 2012
- Avrupa Allerji Diploması, Avrupa Allerji ve Klinik İmmünoloji Yeterlilik Sınavı 2011
- Anestezi Allerjileri Diploması, Montpellier 2011
- Göğüs Hastalıkları Avrupa Yeterlilik Sınavı Diploması-HERMES ERS 2010
- Ulusal Polisomnografi Sertifikası 2008 Antalya

Ödüller:

- Türk Toraks Derneği, Genç Araştırmacı Ödülü (2018)
- Türk Toraks Derneği En iyi Yayınlamış Yurtdışı Yayın Ödülü (2017)
- TUBITAK Proje Bursu (2016): Bleomisine Bağlı Akciğer Fibrozisi Patogenezinde Atopinin Rolü
- EAACI Klinik Fellowship 2009 Bursu
- Türk Toraks Derneği, En iyi poster sunumu Üçüncülük Ödülü 2008

Görevler:

- Avrupa Allerji Derneği, Etik Komitesi, Komite Sekreteri (2018-...)
- Türk Toraks Derneği, Astım ve Allerji Çalışma Grubu Yönetim Kurulu (2016-...)
- Ulusal Toraks Kongre Komitesi, Kongre Sekreteri (2016-2017)
- Ulusal Toraks Kongre Komitesi, Uzman Temsilcisi (2015-2016)