

T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AnaBilimDalı

**ÇOCUKLUK DÖNEMİ ALERJİK BRONŞİAL  
ASTİM HASTALIĞINDA IL-17F GEN  
POLİMORFİZMLERİNİN ROLÜ**

**Özlem DUYMUŞ**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Antalya, 2009**

T.C.  
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AnaBilimDalı

# ÇOCUKLUK DÖNEMİ ALERJİK BRONŞİAL ASTİM HASTALIĞINDA IL-17F GEN POLİMORFİZMLERİNİN ROLÜ

Özlem DUYMUŞ

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Olcay YEĞİN

Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklenmiştir ( Proje No: 2007.02.0122.010)

“Kaynakça gösterilerek tezimden yararlanılabilir.”

Antalya, 2009

**Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü' ne**

Bu çalışma jürimiz tarafından Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı İmmünoloji programında yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

12/02/2009

**Tez Danışmanı: Prof.Dr. Olcay YEĞİN**  
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD  
İmmünoloji Bilim Dalı

**Üye: Prof.Dr.Ender TERZİOĞLU**  
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi  
İç Hastalıkları ABD  
İmmünoloji Bilim Dalı

**Üye: Doç.Dr.Ayşen BİNGÖL BOZ**  
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD  
İmmünoloji Bilim Dalı

**Üye: Doç.Dr.Sadi KÖKSOY**  
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Patoloji ABD

**Üye: Doç. Dr. Nuray ERİN**  
Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi  
İç Hastalıkları ABD

**Onay:**

Bu Tez Enstitü Yönetimi Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulunun ...../...../..... tarih ve ...../..... sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

**Prof. Dr. İsmail ÜSTÜNER**  
Enstitü Müdürü

## ÖZET

IL-17 sitokin ailesi yeni keşfedilmiş olup, 1995 yılında IL-17A tanımlanmıştır, daha sonra diğer üyeleri (IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E, IL-17F) 2000-2002 yılları arasında keşfedilmiştir. Bu moleküller disülfid zincirli 20-30 kd molekül ağırlığında yangı oluşturuucu (proinflammatory) sitokinlerdir.

IL-17F karaciğer, akciğer ve fetal karaciğer dokuda güçlü ekspresyona sahiptir. Ayrıca inaktif mast hücrelerinde ve aktivasyon sonrası periferik kan mononükleer hücrelerde, basofillerde, CD4+ hücrelerde ekspresyona sahiptir. IL-17F, ML-1 veya IL-24 olarak da adlandırılır. IL-17F IL-17A ile %40 homoloji gösterir ve 153 amino asit içeren bir proteindir. IL-17 ailesinin diğer üyelerine göre IL-17A ile en yüksek homoloji gösteren IL-17F'dir. IL-17F geni 3 ekzon içeren 7742 bp uzunluğundadır, 6p12 kromozomda lokalize olmuştur. IL-17F birkaç hücre tipinde sitokinler, kemokinler, growth faktörü, adhesyon molekülleri, IL-8, GM-CSF, growth-related oncogene- $\alpha$  (GRO- $\alpha$ ), epitelial-cell derived neutrofil activating protein (ENA-78), TGF- $\beta$ , monosit chemoattractant protein-1 ve intercellular adhesion molekül-1 ekspresyonunu indükler. Bu moleküller havayolu astım modelinde ve lökosit aktivasyonunda önemli rol oynar. IL-17F, IL-6 ve IL-8 transkripsiyonunu yükseltir. IL-17A ve IL-17F, IL-8 salınımı yolu ile nötrofillerin havayolunda toplanmasını sağlar.

Bu veriler IL-17F'in havayolu inflamasyon ve astım patogeneğinde önemli rol oynayan bir sitokin olması ihtimalini gündeme getirmektedir. IL-17F geninde amino asit değişimine neden olan 3 polimorfizm saptanmıştır. Bu polimorfizmler 126Glu-Gly, 155Val-Ile, 161His-Arg'dir. Biz bu çalışmada IL-17F polimorfizmlerinin Türk toplumundaki dağılımını ve çocukluk çağı astım olgularında bu dağılımın farklı olup olmadığını incelemeyi planladık. 161His-Arg IL-17F polimorfizminin ARMS-PCR yöntemi ile genotiplendirmemizin sonucunda astım ve sağlıklı kontrol gruplarında aleller arasında, A allelinde bir artış gözlemleniyse de istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır ( $p=0,066$ ). Astım ve sağlıklı kontrol gruplarının genotipleri arasında birbirine yakın sonuçlar elde edilmiştir.

Türk toplumunda ilk kez yapılmış olan IL-17F His161Arg polimorfizminin sonucu Afrika-Amerikan ve Avrupa-Amerikan toplumlarındakine benzerlik gösterip, astım ve sağlıklı kontroller arasında anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir. Ancak Japon toplumunda bu polimorfizm sonuçları anlamlı bulunmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Astım, IL-17F 126Glu-Gly, IL-17F 155Val-Ile, IL-17F 161His-Arg, ARMS-PCR

## ABSTRACT

The IL-17 cytokine family is a recently discovered group of cytokines. IL-17A, the original member of this family, first identified in 1995 and another members of the IL17 gene family (IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E, IL-17F) were discovered between 2000 and 2002. These molecules have a similar molecular weight of 20 to 30 kd and they are proinflammatory cytokines.

IL-17F is strongly expressed in human liver, lung and fetal liver tissue. IL-17F is also expressed in inactivated mast cells and in the following cells after activation: peripheral blood mononuclear cells, basophils, peripheral blood CD4+ cells and mast cells. IL-17F also referred to as cytokine ML-1 or IL-24. IL-17F, a protein containing 153 amino acids, shares 40% homology with IL-17A; this is a much higher degree of homology than IL-17A shares with other members of its family. The IL-17F gene is 7742 bp in length and contains three exons and located on chromosome 6p12. IL-17F induces several cell types to express cytokines, chemokines, growth factors, and adhesion molecules, including IL-8, GM-CSF, growth-related oncogene- $\alpha$  (GRO- $\alpha$ ), epithelial-cell derived neutrophil activating protein (ENA)-78, TGF- $\beta$ , monocyte chemoattractant protein-1 and intercellular adhesion molecule-1. These molecules play a crucial role in leukocyte activation and remodeling of asthmatic airways. IL-17F upregulates IL-6, IL-8 transcripts. IL-17A and IL-17F have been shown to recruit neutrophils into the airways via the release of IL-8.

These data have suggested that IL-17F plays a role in airways inflammation and asthma. Three polymorphisms were reported to cause amino acid change on IL-17F gene. These polymorphisms are 126Glu-Gly, 155Val-Ile, 161His-Arg. The aim of our case-control study was to investigate the IL-17 polymorphisms (126Glu-Gly, 155Val-Ile, 161His-Arg) in healthy Turkish population and children with asthma. 161His-Arg, 126Glu-Gly and 155Val-Ile IL-17F polymorphisms genotyped by ARMS-PCR. We showed 161His-Arg IL-17F polymorphism showed no statistically significant difference with respect to the genotyped frequencies of the patients and controls ( $p=0,066$ )

IL-17F His161Arg polymorphism showed similar results with group of African-Americans and European-Americans but IL-17F His161Arg polymorphism have been found to associate with asthma in a group of Japan patients.

**Key Words:** Asthma, IL-17F 126Glu-Gly, IL-17F 155Val-Ile, IL-17F 161His-Arg, ARMS-PCR

## TEŐEKKÜRLER

Bu araŐtırmanın gerçekleŐmesinde yol gösteren saygıdeğer hocam Prof. Dr. Olcay YEğİN'ne, tezimde yardımını esirgemeyen sayın Prof. Dr. Uęur YAVUZER'e, bana her aŐamada yardımcı olan bilgilerini benimle paylaŐarak destek olan Dr. Nilüfer İMİR' e, teknik olanakları ile bu çalışmanın tüm basamaklarının gerçekleŐmesinde desteği olan bütün Merkez Araştırma Laboratuvarı ve İmmünoloji Bilim Dalı çalıŐanlarına, manevi destekleriyle yanımda olan canım anneme, babama, kardeŐime ve sevgili eŐime çok teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	SAYFA
<b>ÖZET</b>	<b>i</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>ii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>iii</b>
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b>	<b>iv</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b>	<b>vi</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b>	<b>vii</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	<b>viii</b>
<b>GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER</b>	<b>1</b>
1.1.	2
1.2.	2
1.3.	3
1.4.	3
1.5.	3
1.6.	4
1.7.	4
1.7.1.	5
1.7.1.1.	6
1.7.2.	6
1.7.2.1.	7
1.7.2.2.	7
1.7.3.	8
1.8.	10
1.8.1.	13
1.8.2.	15

<b>MATERYAL VE YÖNTEMLER</b>		
2.1.	Materyal	17
2.2.	DNA İzolasyonu	17
2.3.	ARMS-PCR	18
2.3.1.	IL-17F geninde 161HİS-ARG A-G Araştırılması	18
2.3.2.	IL-17F geninde 126GLU-GLY A-G Araştırılması	20
2.3.3.	IL-17F geninde 155VAL-ILE G-A Araştırılması	22
<b>BULGULAR</b>		
3.1.	His161Arg A>G IL-17F Polimorfizminin ARMS-PCR Sonuçları	24
3.2.	Glu126Gly A>G IL-17F Polimorfizminin ARMS-PCR Sonuçları	25
3.3.	VAI155Ile G>A IL-17F Polimorfizminin ARMS-PCR Sonuçları	25
<b>TARTIŞMA</b>		26
<b>SONUÇLAR</b>		28
<b>KAYNAKLAR</b>		29
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>		38
<b>EKLER</b>		39
<b>Ek.1</b>	His161Arg A>G IL-17F Polimorfizmi için çoğaltılan gen bölgesi ( <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=Nucleotide&amp;itool=toolbar">www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=Nucleotide&amp;itool=toolbar</a> )	
<b>Ek.2</b>	Glu126Gly A>G IL-17F Polimorfizmi için çoğaltılan gen bölgesi ( <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=Nucleotide&amp;itool=toolbar">www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=Nucleotide&amp;itool=toolbar</a> )	
<b>Ek.3</b>	VAI155Ile G>A IL-17F Polimorfizmi için çoğaltılan gen bölgesi ( <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=Nucleotide&amp;itool=toolbar">www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=Nucleotide&amp;itool=toolbar</a> )	
<b>Ek.4</b>	gAPDH için çoğaltılan gen bölgesi ( <a href="http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=Nucleotide&amp;itool=toolbar">www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=Nucleotide&amp;itool=toolbar</a> )	



## SİMGELELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>AHR</b>	: Airway Hyperreactivity
<b>ARMS</b>	: Amplification Refractory Mutation Systems
<b>GM-CSF</b>	: Granulosit Monosit-Cell Stimulating Factor
<b>ICAM-I</b>	: Intracellular Adhesion Molecule-1
<b>IFN-<math>\gamma</math></b>	: Interferon-Gamma
<b>IgE</b>	: Immunoglobulin E
<b>IL</b>	: Interleukin
<b>MBP</b>	: Major Basic Protein
<b>MCP</b>	: Monocyte Chemoattractant Protein
<b>PCR</b>	: Polymerase Chain Reaction
<b>RA</b>	: Rheumatoid Arthritis
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	: Tumor Growth Factor-Beta
<b>Th</b>	: T Helper
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	: Tumor Necrosis Factor-Alpha
<b>VCAM-I</b>	: Vascular Adhesion Molecule-1
<b>TLR</b>	: Toll-Like Receptor
<b>TNF<math>\alpha</math></b>	: Tümör nekroz faktör alfa
<b>Ig</b>	: İmmünglobulin
<b>ENA-78</b>	: epitelial-cell derived neutrofil activating protein
<b>GRO-<math>\alpha</math></b>	: growth-related oncogene- $\alpha$
<b>Glu</b>	: Glutamin
<b>Gly</b>	: Glycine
<b>His</b>	: Histidine
<b>Arg</b>	: Arginine
<b>Val</b>	: Valine
<b>İle</b>	: İzolosin
<b>TCR</b>	: T cell receptor

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo</b>		<b>Sayfa</b>
<b>2.3.1.</b>	161HİS-ARG A-G PCR için kullanılan kimyasallar.	<b>19</b>
<b>2.3.2.</b>	126GLU-GLY A-G PCR için kullanılan kimyasallar.	<b>21</b>
<b>2.3.3.</b>	155VAL-ILE G-A PCR için kullanılan kimyasallar	<b>22</b>
<b>3.1.1.</b>	His161Arg A>G IL-17F Polimorfizminin astım hastaları ve kontrol grubu ile karşılaştırılması	<b>24</b>
<b>3.1.2.</b>	His161Arg A>G A ve G allel dağılımı	<b>24</b>
<b>4.1.</b>	Türk toplumu ve Japon toplumu arasındaki astım hastaları ve kontrol grubu arasındaki karşılaştırma	<b>27</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil		Sayfa
1.7.3.1.	İmmün sistemde görevli hücreler.	8
1.8.1.	Th17 hücreler.	11
2.3.1.	161HİS-ARG A-G polimorfizminde ARMS-PCR ile tespit edilen genotipler.	20
2.3.2.	126GLU-GLY A-G polimorfizminde ARMS-PCR ile tespit edilen genotipler.	21
2.3.3.	155VAL-ILE G-A polimorfizminde ARMS-PCR ile tespit edilen genotipler.	23

## GİRİŞ ve GENEL BİLGİLER

Bronşial astım 1980'li yıllara kadar havayolları düz kasının bir hastalığı olarak kabul edilirdi. Duyarlı kişi antijen ile karşılaşınca mast hücrelerinin degranüle olduğu bronş düz kasının kasılmasına neden olan histamin ve lökotrien B4, PAF (Platelet activating factor) gibi mediatörlerin açığa çıktığı, bu mediatörlerin bronş düz kasını kastiği böylece hastada semptomların ortaya çıktığı varsayılmaktaydı.

Fiberoptik bronkoskobinin uygulanmaya başlanmasıyla astımlı hastalarda bronş lavajı bronş biopsisi gibi hava yolu örneklerinin alınabilmesi olanağı doğmuştur. Yapılan bronş biopsi çalışmalarında hava yollarında yangının varlığı gösterilmiştir. Bu bulgulardan sonra astımın tanımı değişmiş ve hava yollarının kronik inflamatuvar bir hastalığı olarak kabul edilmiştir [1].

Astım dünya çapında yaklaşık 155 milyon ferdi etkileyen kronik havayolu yangı hastalığıdır [2, 3]. Hava yollarındaki kronik yangı bronş mukozasında yapısal değişikliklere, dolayısıyla hava yollarının nonspesifik uyarılara karşı duyarlılığının artmasına neden olur. Duyarlılığı artmış olan hava yolları, sağlıklı kişileri etkilemeyecek kadar küçük uyarılar karşısında bile abartılı bronkokonstriktör yanıt verir, buna da bronşial hiperreaktivite denir. Hava yolu yangısı ve artmış hava yolu duyarlılığı sonucu bronşlar diffüz olarak daralır. Bu daralma değişik derecelerde olup genellikle geri dönüşümlüdür [1].

Astım üç önemli özelliği bulunan ve bir hava geçidi aşırı duyarlılığı ile karakterizedir.

1. Hava geçidinin yangısı
2. Bronşial mukus bezlerinin fazla sekresyonu ve inflamatuvar hücrelerin sızması sonucu oluşan mukusun hava geçitlerini lüminal engellemesi
3. Artan geçirgenlik ve ödeme birlikte bronşial mikrodamarlarda vazodilatasyon [4].

Diğer atopik hastalıklar gibi astım az etkili çeşitli genler ve aynı derecede önemli çevresel faktörler arasında etkileşim ile kompleks düzensizliklere sebep olur. Astım önemli genetik bileşenlere sahiptir fakat kalıtımın biçimi açık değil, %36-79 arasında astım çeşitlerinin kalıtım yoluyla geçtiği tahmin edilir [5-7]. Ebeveynlerden birisinin astımlı olması halinde doğacak çocukta

astım riskinin 2-3 kat, anne ve babanın her ikisinde de astım olması durumunda ise bu riskin 6-7 kat artması genetik faktörlerin önemini gösterir. Astım için bilinen en önemli genetik risk faktörü atopidir. Atopi astıma duyarlılığı arttıran bir özelliktir. Astımla ilgili bulunan çeşitli genler tanımlanmıştır. Bununla birlikte atopik kişilerde astım gelişiminde çevresel faktörler daha önemli gibi görünmektedir. Genetik faktörler hastalığın ağırlığını belirlemektedir [1].

Astım genetiğini çalışmada genel olarak iki yaklaşım vardır, konumsal klonlama ve aday gene yaklaşımdır. Konumsal klonlama yaklaşımı, geçen yıllarda astım ilişkili fenotiplerde ve astım genlerinin tanımlanmasında başarılı olmuştur. Allerji ve astımda çeşitli genom ilişkisi bulundu. İlişki, istatistiksel anlamın çeşitli düzeyleri ile farklı fenotipler kullanılarak spesifik etnik gruplarda bulunmuştur. İnsan kromozomlarından 2q33, 5q23-31, 6p24-21, 11q21-13, 12q24-12, and 13q14-12 aday genlerin çoğunu içermesinden dolayı büyük ilgi görmüştür [8].

Hoffjan ve arkadaşları 2003 yılında 64 aday gen gösterdi [9]. 2006'da bu sayı 120'ye ulaştı. 2006-2007 yılları arasında 53 gen rapor edildi [10].

### **1.1. Hava yolu yangısı**

Bronkoscopide astımlı hastaların hava yolları genellikle hiperemik ve ödemli görünümündedir. Bu da akut inflamasyonunun önemli bir göstergesi sayılmaktadır. Bronkoalveolar lavajda lenfosit, mast hücreleri ve eozinofillerin sayısı artmıştır. Bronkoalveolar lavajdaki makrofajlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında aktivite bulguları gözlenmiştir. Biyopsilerde mast hücre, makrofaj, eozinofil ve T hücre sayılarını arttığı görülmüştür. Bu değişiklikler astımlı hastalarda bile görülmüştür. Bu da astımın hava yollarında inflamasyonla seyreden bir hastalık olduğunun göstergesidir[1].

Allerjik astımda inflamasyon IgE bağımlı mekanizmalarla ve allerjen maruziyeti sonucu oluşan yanıtla karakterize olmaktadır. Bu allerjik yangı yanıtı eozinofil infiltrasyonu ile seyreder ve parazit enfeksiyonlarındaki yangı yanıtına benzer. Astımda yangı yanıtı uygunsuz bir şekilde aktive olur ve yarardan çok zarara yol açar. Ev tozu akarı ve polen proteinleri gibi bazı allerjenler eozinofilik yangıyı indüklerler. Normalde böyle bir yangı yanıtı etkeni ortadan kaldırır ve kendini sınırlar fakat allerjik hastalıkta olayı başlatan uyarı kalıcıdır. Akut yangı yanıtı kronik yangıya döner[1].

### **1.2. İntrensek Astım**

Astımlı hastaların çoğunda atopi vardır. Bir kısmında ise atopi bulgusu mevcut değildir. Cilt testleri negatiftir, total ve spesifik IgE düzeyleri normaldir. Bu grup intrensek astım olarak isimlendirilir ve ilerleyen dönemde allerjik astımdan daha ağır seyreder[1].

Patofizyolojisi allerjik astıma çok benzer ve bakteriyel veya viral antijenlerin sebep olduğu lokal IgE üretimine ait kanıtlar gün geçtikçe artmaktadır[1].

### **1.3. İnflamasyon ve Hava Yolları Aşırı Duyarlılığı**

Artmış hava yolu cevabı astımın tanımlayıcı özelliklerinden birisidir ve birçok uyarana yanıt olarak hava yollarının bronkokonstriksiyonu ile seyreder. İnflamasyon, hava yollarının duyarlılığını artırır. Böylece normalde hava yolunda herhangi bir etkiye yol açmayacak uyaranların hava yolunu daraltmasına neden olur. İnflamasyon hava yollarındaki sinir uçlarını aktive ederek direkt olarak öksürük, göğüste sıkışma hissi gibi semptomlara da yol açar[1].

### **1.4. İnflamasyon Etkileri**

Akut ve inflamatuvar yanıt solunum yollarındaki hedef hücrelerde çeşitli etkilere yola açar. Böylece astım için karakteristik patofizyolojik değişiklikler oluşur. Astımlı hastaların hava yollarında meydana gelen yapısal değişiklikler remodeling olarak adlandırılır. Remodeling'in astımlı hastalarda görülen geri dönüşümsüz fonksiyon bozukluğundan sorumlu olduğuna inanılmaktadır[1].

Epitel: Kimyasal madde maruziyeti gibi farklı mekanizmalar astımlı hastalarda karakteristik bir özellik olan hava yolu epitelinde dökülmeye yol açmaktadır. EBP (eosinophilic basic protein) ve serbest radikaller yangısal hücrelerden salınan proteazlarla birlikte epitelde dökülmeye yol açar. Astımlı hastaların bronkoalveoler lavajında ve balgamından epitel hücre kümeleri bulunur. Bunlara creola cisimcikleri adı verilir[1].

Hava Yolu Düz Kası: Astımda salınan mediatörlerin çoğunun bronkokonstriktör etkisi vardır. Astımlı hastaların hava yolları düz kasında hipertrofi ve hiperplazi görülür. Bu durum düz kas hücrelerinin PDGF ve Endotelin 1 gibi mediatörler ile uyarılması ile oluşur. Ayrıca hava yolu düz kas hücreleri astımda sekretuar bir özelliğe de sahip olup birçok sitokin, kemokin ve lipid mediatörler salgırlar[1].

Nöral Etkiler: Allerjik inflamasyonda yangısal hücrelerle sinirler arası yakın bir ilişki vardır. Örneğin bradikininin duyu sinirlerini (myelinsiz C lifleri) aktive etmektedir[1].

İnflamatuvar mediatörler hava yolu nöronlarındaki sinir uçlarında nörotransmitter salınımını da düzenler. Ayrıca inflamatuvar mediatörler sinir uçlarını uyararak refleks kolinerjik bronkokonstriksiyona veya inflamatuvar nöropeptidlerin salınımına da yol açabilir. Hava yolu epitelinde bulunan sinir uçlarının duyarlılığının artması hiperaljeziye yol açar. Bu da temel klinik belirtiler olan öksürüğe ve göğüste sıkışmaya yol açmaktadır [1].

### **1.5. Astım Patogenezinde Rol oynayan genetik yapı**

Astımlı ailelerde yapılan genetik çalışmalar atopi, solunum yolu aşırı duyarlılığı ve astımın ortak bir genetik kontrol altında olduğunu doğrulamaktadır. Özellikle tek yumurta ikizlerindeki bulgular genetik gücü göstermektedir. Genetik bulgular tek bir geni işaret etmemektedir. Astım, atopi ve solunum yolu aşırı duyarlılığı birden fazla genin kontrolünde gözükmektedir [11].

Astım, atopi ve solunum yolu aşırı duyarlılığı ile ilişkili olduğu varsayılan gen grupları:

2. kromozomda 2q33:CD28 ve insüline benzeyen büyüme faktörünü bağlayan protein (IGBP) [11]
3. kromozomda 3p24.2-p22: C-C kemokin reseptörü (CCR) [11]
4. kromozomda 4q35: interferon düzenleyici faktör(IRF) [11]
5. kromozomda 5p15, 5q33-q33: IL-3, IL-4, IL-5, IL-12, IL-9, CSF-2, GR1(glikokortikoid reseptörü), ADR  $\beta$ 2 (adrenerjik reseptör), CD14, 5q31:  $\beta$ 2-agonist reseptör (koloni stimulan faktör-2) [11]
6. kromozomda 6p21.1-p23: HLA-D, TNF- $\alpha$  ( tümör nekroze edici faktör- $\alpha$ ) [11]
7. kromozomda 7p15.2: TCR- $\beta$ , IL-6 ve 7q35: TCR- $\beta$  (T hücresi antijen resptörü) [11]
9. kromozomda 9q31.1: tropomiyosin bağlayan protein(TMOP) [11]
11. kromozomda 11p15,11q13: Fc $\epsilon$ RI $\beta$ , CC16/CC10 [11]
12. kromozomda 12q14, q24.33: STAT-6, IFN- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ ), SCF, IGF-1 (insüline benzeyen büyüme faktörü), LTA-4, NOSi [11]
13. kromozomda 13q14.3-qter [11]
14. kromozomda 14q11.2-q13, 14q32 [11]
16. kromozomda 16p12.1, 16q22.1-q24.2: IL-4 reseptörü [11]
17. kromozomda 17p11.1-q11.2: C-C kemokinler [11]
19. kromozomda 19q13: CD22 [11].

### 1.6. Çocukluk Dönemi Astım

Astım çocuklarda en sık görülen kronik hastalıklardan biridir. Sıklığı ülkelere, kullanılan yöntemlere, ırka, coğrafi bölgelere ve çevresel etkenlere göre değişmekle birlikte, gelişmiş toplumlarda ISAAC yöntemi ile astım prevalansı %4-23 olarak hesaplanmaktadır. Ülkemizde ISAAC yöntemiyle yapılan pediatri prevalans çalışmalarında kümülatif astım sıklığı %13.7 ile %15.3 arasında değişmektedir. Astımın oluşumunda rol oynayan etkenler genetik ve çevresel faktörlerdir. Astımın oluşumunda en önemli etken atopidir. Atopi çevresel allerjenlere karşı aşırı IgE yapımıdır. Atopinin genetik geçişi birden fazla gene bağlıdır yani poligeniktir [12].

Çevresel faktörlerden en önemlisi sigaradır. Bebek gerek intrauterin hayatta gerekse doğum sonrasında sigaraya maruz kalırsa, fetal akciğer gelişimi bozulabildiği gibi, kalıcı solunum yolu hasarlarının da gelişebileceği gösterilmiştir. Sigara dışında çevresel allerjenler hava kirliliği, viral enfeksiyon, iritanlar, psikolojik ve endokronolojik değişiklikler de astım prevalansında etkilidir [12].

### 1.7. İmmün Sistem

Lenfoid organlar ve immün sistemde görevli olan hücrelerin tümüne immün sistem denir [13]. İmmün sistemin fizyolojik görevi enfeksiyonları engellemek ve yerleşmiş enfeksiyonları yok etmektir [14].

### 1.7.1. Doğal ve Edinsel İmmünite

Doğal immün sistem potansiyel patojenlere karşı önemli ilk savunma hattıdır. Fiziksel kimyasal ve hücrel elementleri içerir [15]. Patojenleri hızlı saptaması tehlikelere karşı hemen yanıt vermesi gereklidir [16]. Daha önceden patojenle karşılaşma sonucu ise edinilmiş bağışıklık gelişir. Epitel örtüsü, fagositik özellik taşıyan nötrofil ve makrofajlar, doğal öldürücü hücreler ile sitokinler ve kompleman sisteminin parçalarını içine alan çeşitli proteinler doğal immünitenin bileşenleridir [17].

Doğal dirençte; mekanik, humoral ve hücrel faktörler rol oynamaktadır. Deri ve mukozaların anatomik yapısı, mukozaların mukus salgısı, solunum sisteminin silli epitel hücrelerinin dışarıya yönelik hareketi, bağırsağın peristaltik hareketi patojenlerin yerleşmesini önleyen doğal mekanik engellerdir. Deride bulunan ter bezlerinin yağ asitleri, midenin hidroklorik asiti, virüsleri tutan mukus, tükürük ve göz yaşında bulunan lizozim, kompleman C-reaktif protein, fibronektin, interferon gibi akut faz proteinleri antimikrobial etkili humoral faktörlerdir. Deri ve mukozaların normal florası, NK hücreleri ve fagositoz (polimorfo nükleer lökosit ve makrofajların patojenleri fagosite ederek fagozom ve fagolizozom oluşturması, oksijene bağımlı ya da bağımsız olarak patojenleri sindirmesi) olayı, doğal immünitede önemli hücrel etkinliklerdir [18]. Doğal immün yanıtın mekanizmaları mikrop tiplerini tanıırken, edinsel immünitenin hücreleri mikropların ürettiği değişik maddeleri ve enfeksiyona yol açmayan molekülleri de tanıyan reseptörler taşırlar [19].

Değişik hücre ve moleküllerin oluşturduğu, hücre dışı ve hücre içi mikroplara karşı savunma sağlayan iki çeşit edinsel immünite vardır; humoral ve hücrel immünite. Humoral immünite B lenfositlerin ürettiği antikor denilen proteinler tarafından oluşturulur. Antikorlar dolaşıma ve mukoza sıvılarına salgılanarak kanda ve gastrointestinal, solunum yolları gibi mukozal organların lümenlerinde mevcut olan mikropları ve mikrobik toksinleri etkisiz hale getirirler. Antikorların en önemli özelliklerinden bir tanesi mukozal yüzeydeki ve kandaki mikropların konak hücrelere ve ilgili dokulara erişmesini ve yerleşmesini engellemektir. Bu şekilde antikorlar enfeksiyonları yerleşmeden engeller. Antikorlar enfekte hücrenin içinde yaşayan ve bölünen hücrelere erişemezler. Böyle hücre içi mikroplara karşı savunmaya hücrel immünite denir. Bazı T lenfositler, fagositik veziküller tarafından yutulan mikropları yok etmek için fagositleri aktive ederler. Diğer T lenfositleri sitoplazmasında enfeksiyona yol açan mikropları barındıran tüm konak hücrelerini öldürürler [19]. Edinsel bağışıklık kişi enfeksiyöz bir patojen ile karşılaştığında gelişir. Lenfosit ve sitokinler bir patojen ya da antijene karşı edinilmiş bağışık yanıtın oluşturması, doğal bağışıklıkta kullanılan, makrofaj, nötrofil ve öldürücü hücrelerden oluşan efektör hücrelerin katılımı ile gelişen efektör mekanizmalara dayanır [20].

Edinilmiş bağışıklık antijen (patojen)'e iki tip cevabı içerir. İlk yanıt B hücrelerinin son ürünü olan plazma hücrelerince üretilen antikorlar ile



düzenlenir. Bu yanıt humoral immün yanıt olarak bilinir. Humoral bağışıklık gelişmesi, sürekli antikor üretimi ve bellek hücrelerinin oluşumu ile sonuçlanır [20].

İkinci tip yanıt patojenin bir fagosit tarafından alınmasını gerektirir. Hücre içi patojenlere antikorlar ulaşamadığından, hücrenel (hücre-aracılı) bir yanıt ya da hücrenel bağışıklık gerektirir. T hücreleri, B hücreleri ve antijen sunucu hücreler, hücrenel bağışıklıkta anahtar rol oynarlar [20].

Aktif bağışıklık, bir patojenle karşılaşıldığında oluşan bağışıklık türüdür. Pasif bağışıklık, daha önce bir patojenle karşılaşmamış ya da yanıt gösterememiş bir bireye immünize olmuş bir bireyden serum ve lenfosit transferi ile oluşan geçici bir bağışıklıktır [20].

#### 1.7.1.1. Edinilmiş Bağışıklığın Özellikleri

- a) **Özgünlük:** Antijenin özgün bölümleri ayrı lenfositlerce tanınır [20].
- b) **Çeşitlilik:** Lenfositler çok sayıda ve türde antijeni tanımak ve yanıt verebilmek için antijen reseptörlerini değiştiren moleküler mekanizmalar kullanırlar [20].
- c) **Bellek:** Lenfositlerin antijenle karşılaşması iki olayla sonuçlanır. Antijene özgün hücrelerin mitozla çoğalmaları (klonal genişleme) ve yedek bellek hücrelerinin gelişmesidir. Bellek hücreleri aynı antijenle tekrar karşılaştıklarında daha hızlı ve etkin yanıt geliştirirler [20].
- d) **Kendini sınırlama:** Bir immün yanıt özgün bir antijen tarafından uyarılır. Antijen nötralize edildiğinde ya da ortadan kalktığında yanıtta kaybolur [20].
- e) **Tolerans:** Bir immün yanıt yabancı bir antijen ortadan kaldırılana kadar sürerken, organizma kendi antijenlerine karşı yanıt geliştirmez. Tolerans kendi antijenlerine karşı reseptörleri bulunan lenfositlerin elendiği bir seçme süreci ile gelişir [20].

#### 1.7.2. İmmün Sistemde Görevli Organlar

Lenfoid organlar, immün sistemde görevli olan organlardır. İmmün cevabı oluşturan hücrelerin kemik iliğinden çıktıktan sonra olgunlaştığı organlara birincil (merkezi), immün cevabın oluştuğu organlara ise ikincil (periferik) lenfoid organlar denir [21].

- Birincil Lenfoid Organlar
  - Kemik İliği
  - Timus
  - Fabricius Kesesi ve buna eşdeğer organlar [21]
- İkincil Lenfoid Organlar
  - Lenf Düğümleri
  - Dalak
  - Mukoza ile ilgili Lenfoid Dokular (= Kapsülsüz Lenfoid Dokular) [21]

### 1.7.2.1. Birincil Lenfoid Organlar

**Kemik iliği:** Kemik iliği, fetal döneminin 4. ayından itibaren kan hücrelerini yapan ve immün cevapta önemli görevleri olan lenfoid bir organdır. Kemik iliğinde lenfosit ve diğer kan hücrelerinin ana ve genç şekilleri bulunmaktadır. Kök kan hücrelerinin farklılaşmasıyla olgunlaşan çeşitli lenfositler ve immün cevapta görevli diğer kan hücreleri, kemik iliğinden periferik kan dolaşımına geçerek ilgili doku ve organlara yerleşmektedir [21].

**Timus:** Timus, fetal yaşamın 6. haftasında şekillenmekte, doğumdan sonra gelişerek ergenlik yaşta en büyük halini almakta ve daha sonra küçülmektedir. Hücresel tip immün cevapta etkili, iki loblu bir organdır. Timusun her bir lobu korteks ve medulla bölgelerinden oluşmaktadır [21].

**Fabrisius Kese ve Memelilerde Eş Değer Organlar:** B lenfositlerin olgunlaşmasında etkili olan fabrisius kese (Bursa of fabricius), kuşların kalın bağırsak sonunda bulunan bir organdır. Memelilerde buna eşdeğer organlar, doğumdan önce dalak ve karaciğer, doğumdan sonra mide-barsak sistemi mukoza altı lenfoid dokular (tonsiller, appendiks, peyer plakları) ile kemik iliğidir. Kemik iliğinden çıkan öncü B lenfositleri, bu organların kontrolünde olgunlaşmakta ve B lenfosit adını almaktadır [21].

Glick 1956 yılında civcivlerde fabrisius keseyi çıkardıktan sonra, verdikleri Salmonella bakteri antijenlerine karşı antikor oluşmadığını ve humoral tip immün cevapta fabrisius kesenin önemli rolü olduğunu göstermişlerdir [21].

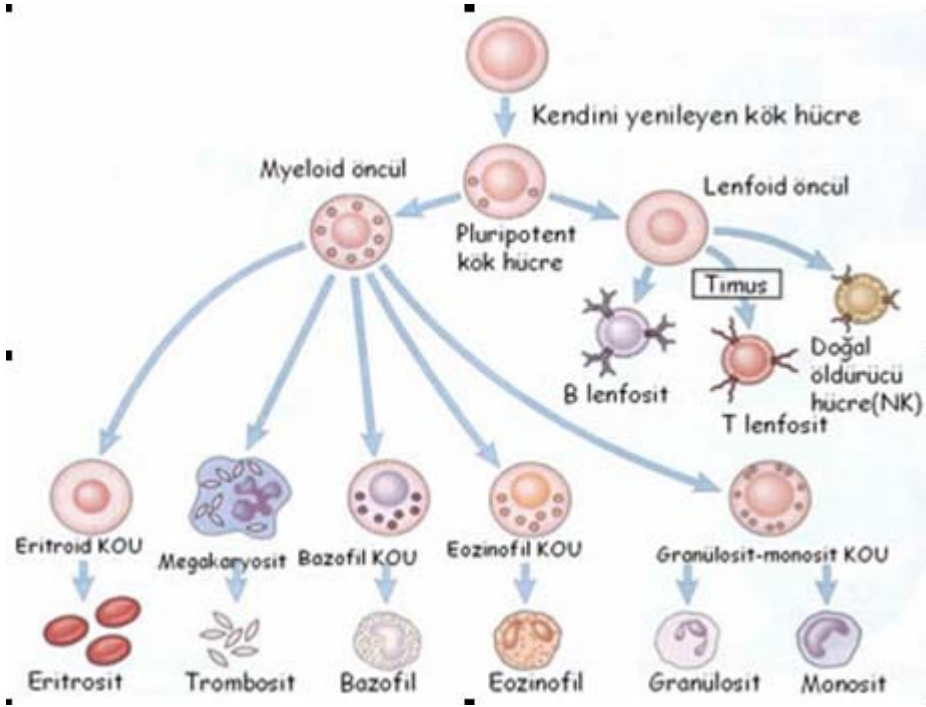
### 1.7.2.2. İkincil Lenfoid Organlar

**Lenf Düğümleri:** Tüm vücuda yayılan lenfatik kanalların etrafında yer alan, lenfoid dokuların bir araya gelmesinden oluşan nodüler yapılardır. Bütün epitel, bağ dokusu ve çoğu parankimal organlardaki sıvılar lenfatikler tarafından boşaltılır, dokulardan lenf düğümüne boşaltılan bu sıvıya lenf adı verilir. Bu nedenle lenf, epitel ve dokulardan absorbe edilen maddelerin karışımıdır. Lenf, lenf düğümlerinden akarken lenf düğümünde bulunan ASH'ler epitelden dokulara geçen mikroplara ait antijenleri yakalayabilir [22].

**Dalak:** Lenf kaynaklı antijenlere karşı lenf düğümlerinin verdiği immün yanıtın aynısını kan kaynaklı antijenlere karşı oluşturan karın boşluğundaki organdır. Dalağa giren kan, "kanallar ağı"(sinüzoidler) içinde dolunur. Kan kaynaklı antijenler, dalakta dendritik hücreler ve makrofajlar tarafından tutulur ve yoğunlaştırılır. Dalakta bulunan aşırı miktardaki fagositler, kanda bulunan mikropları yakalar ve yok ederler [22].

**Mukoza ile ilgili Lenfoid Dokular (= Kapsülsüz Lenfoid Dokular, Kutanöz ve Mukozal Lenfoid Sistemler):** Deri altındaki epitelin ve gastrointestinal sistem ile solunum sistemlerinde yer alırlar. Faringeal tonsiller ve bağırsaktaki peyer plakları iki mukozal lenfoid dokudur. Kutanöz ve mukozal lenf dokuları epiteli aşan antijenlere karşı immün yanıtta sorumludur, lenf ve kan yoluyla giren antijenlere immün yanıt çoğunlukla lenf düğümü ve dalakta gelişir [22].

### 1.7.3. İmmün Sistemde Görevli Hücreler



**Şekil 1.7.3.1.** İmmün sistemde mikrobiyal antijenleri yakalayıp yüzeyinde ekspres eden özelleşmiş hücreler olan lenfositlerden ve mikropları ortadan kaldıran efektör hücrelerden meydana gelir [23]. ([http://www.turkimmunoloji.org.trimagesimmunoloji\\_nedir](http://www.turkimmunoloji.org.trimagesimmunoloji_nedir))

**Nötrofiller:** Bu hücreler loblu bir çekirdeğe sahiptirler. Sitoplazmaları sekonder (özgün) ve primer granüller içerir. Dolaşımdaki lökositlerin %60-70'ini oluşturan nötrofillerin yaşam süreleri 6-7 saattir ve bağ doku içerisinde 4 gün kadar yaşayabilirler. Postkapiller venüllerden geçerek dolaşımdan ayrıldıktan sonra, nötrofiller opsonize edilmiş bakterilerin elimine edilmesinde veya bağ doku içerisindeki inflamasyonun yayılmasının önlenmesinde rol oynar. Primer granüllerin (elestaz ve mieloperoksidaz) ve sekonder granüllerin (lizozim ve diğer proteazlar) içerdiği enzimler, C5a için özgün reseptörler, L selektin ve integrinler (intersellüler adezyon molekülleri 1 ve 2 ICAM-1, ICAM-2) nötrofillerin antibakteriyel ve homing mekanizmalarındaki fonksiyonlarını kolaylaştırır [24].

**Eozinofiller:** Çift loblu çekirdeğe sahiptirler. Dolaşımdaki lökositlerin %2-4'ünü oluşturur ve dolaşımdan ayrılıp bağ doku içerisine de geçebilirler. Bu hücreler parazitlere karşı ilk savunma hattını oluştururlar ve bronşial astımın tetiklenmesine katılırlar [24].

**Bazofiller:** Bu granülositler ayırt edilemeyen çift loblu çekirdek ve büyük metakromatik sitoplazmik granüller içerirler. Dolaşımdaki lökositlerin %1'ini oluştururlar. Dolaşımdan ayrılıp bağ dokuya girebilirler ve mast hücrelerine

benzerler. Bazofiller acil durumlarda (bronşial astım) gecikmiş hipersentivite (allerjik deri reaksiyonları) ve immün cevabın yayılmasında rol oynarlar [24].

**Trombositler:** Karaciğer ve böbrekte üretilen 34 ile 70 kDa büyüklüğünde bir glikoprotein olan trombopoietin kontrolü altında megakaryositlerden farklılaşan 2-4  $\mu\text{m}$  büyüklüğünde sitoplazma parçacıklarıdır. Megakaryositlerden sitoplazmik çıkıntılar oluşması ile trombositlere parçalanacak olan protrombositler oluşur. Bu farklılaşma süreci 10-12 gün sürer. Trombositler kanın pıhtılaşmasını sağlar ve damar hasarı olduğunda kan kaybını önler [24].

**Monositler:** Çapları 12-20  $\mu\text{m}$  arasındadır. Çekirdekleri böbrek şekilli veya ovaldir. Sitoplazmik granülleri küçüktür ve ışık mikroskopu altında ayırt edilemezler. Monositler kanda 12-100 saat arasında dolaşabilirler ve ardından bağ dokuya göç ederler. Bağ doku içerisinde, bakteriyel fagositoz, antijen sunumu ve ölmüş hücre artıklarının temizlenmesinde rol oynayan makrofajlara farklılaşırlar [24].

**NK Hücreleri:** Konakta oluşabilecek neoplastik hücreleri yok etmekle görevli olan NK hücreleri kan dolaşımında %5-10 oranında bulunurlar. Tümör hücrelerinden başka, virüsle infekte hücreler ve IgG1 veya IgG3 antikolarıyla kaplı hedef hücreler üzerinde öldürücü etkisi vardır [25].

**B – Lenfositler:**B lenfositler humoral (antikora dayalı) immüniteden sorumlu hücrelerdir. Kuşlarda Fabricius kesesinde, memelilerde kemik iliğinde olgunlaşırlar. Kandaki lenfositlerin %25'i, dalaktakilerin %50'si B-lenfosittir. B lenfositler sentezledikleri immünglobulin moleküllerini hücre yüzeylerinde zarda taşırlar ve bu molekül antijene karşı özgül reseptördür. Bu yüzey immünglobulinler IgM ve IgD sınıfı yapı gösterirler. Bir B lenfosit sadece tek bir çeşit antijene (daha doğrusu tek bir epitopa) bağlanabilen yüzey immünglobulin reseptör taşır. Bu nedenle immün sistemde, zaman içinde karşılaşma ihtimali olan onbinlerce çeşit antijene karşı özgül reseptör taşıyan onbinlerce B-lenfosit çeşidi hazır durumda bulunmaktadır. Organizmaya antijen girdiğinde, yüzeyinde bu antijene özgül reseptör taşıyan B-lenfositleri bulur ve uyarır. Uyarılan B-lenfositler başkalaşıma uğrar ve plazma hücrelerine dönüşürler. Plazma hücreleri de uyarılan antijene özgül olan çok miktarda antikor (immünglobulin) sentezler. Plazma hücrelerinin çoğalma yeteneği yoktur ve ömrü kısadır. (~ 2-3 gün). Ancak bir dakikada yaklaşık 20 bin antikor molekülü sentezleyebildiği gösterilmiştir. Uyarılan B-lenfositlerinden bir kısmı ise bellek hücre haline gelir. Bellek B-lenfositleri uzun ömürlüdür (bazen bir ömür boyu) ve aynı antijenle tekrar karşılaştıklarında hızla çoğalarak daha hızlı ve güçlü antikor yanıtı oluştururlar [26].

**T- lenfositler:** Kemik iliğinden timusa gelen öncü T hücreleri, timusun kontrolünde olgunlaşmaktadır. İmmatür T hücrelerin proliferasyonu ve farklılaşması timusta olmakta ve hücre yüzeyinde pek çok reseptör kazanmaktadır. Timositlerin ancak %2'si reseptör kazanarak periferik salınmakta diğerleri ölmektedir [27]. Timusa gelen CD4, CD8 negatif

lenfositler rastgele biçimde düzenlenen T hücre reseptörü zincir genlerinin düzenlenmesi yoluyla T hücre reseptörlerini oluştururlar. Bu sırada hücreler CD4 ve CD8 yönünden de çift pozitif hale geçerler. Bu evrede hücreler negatif ve pozitif seçilme sürecinden geçer. Negatif seçilmede kendi antijenlerine kuvvetle bağlanan ya da hiç bağlanamayan timositler ya olgunlaşmadan ölür ya da anergi durumuna getirilirler (merkezi tolerans). Pozitif seçilmede ise antijenleri kendi MHC'si üzerinde tanıyabilenlerin olgunlaşması sağlanmaktadır. Pozitif seçilme sonrasında hücre yüzeyindeki TCR sayısı artırılır. Hücre antijeni MHC sınıf2 ile tanıyorsa CD4+, CD8- olur. Antijeni MHC sınıf 1 ile tanıyorsa CD4-, CD8+ olur [28].

TCR disülfid bağlarıyla birbirine tutunan iki transmembran polipeptid zincirinden oluşur:  $\alpha$  zincir ve  $\beta$  zinciri. Sınırlı sayıdaki T hücresinde ise TCR  $\gamma$  ve  $\delta$  zincirinden oluşmuştur. Her  $\alpha$  ve  $\beta$  zinciri bir değişken ( $V\alpha$  ve  $V\beta$ ) ve bir sabit ( $C\alpha$  ve  $C\beta$ ) birim içerir. İmmunoglobulin molekülleri ile karşılaştırıldığında,  $V\alpha$  ve  $V\beta$  birimleri immünoglobulinlerin antijen bağlayıcı parçaları (Fab) ile yapısal ve işlevsel olarak benzerdir. TCR molekülü, TCR kompleksini oluştururken CD3 ve  $\zeta$  (zeta) zinciri adlı iki proteinle bağlanır. CD3 ve  $\zeta$  (zeta) zinciri sinyal iletiminden sorumlu olup tüm T hücrelerinde bulunurlar [29].

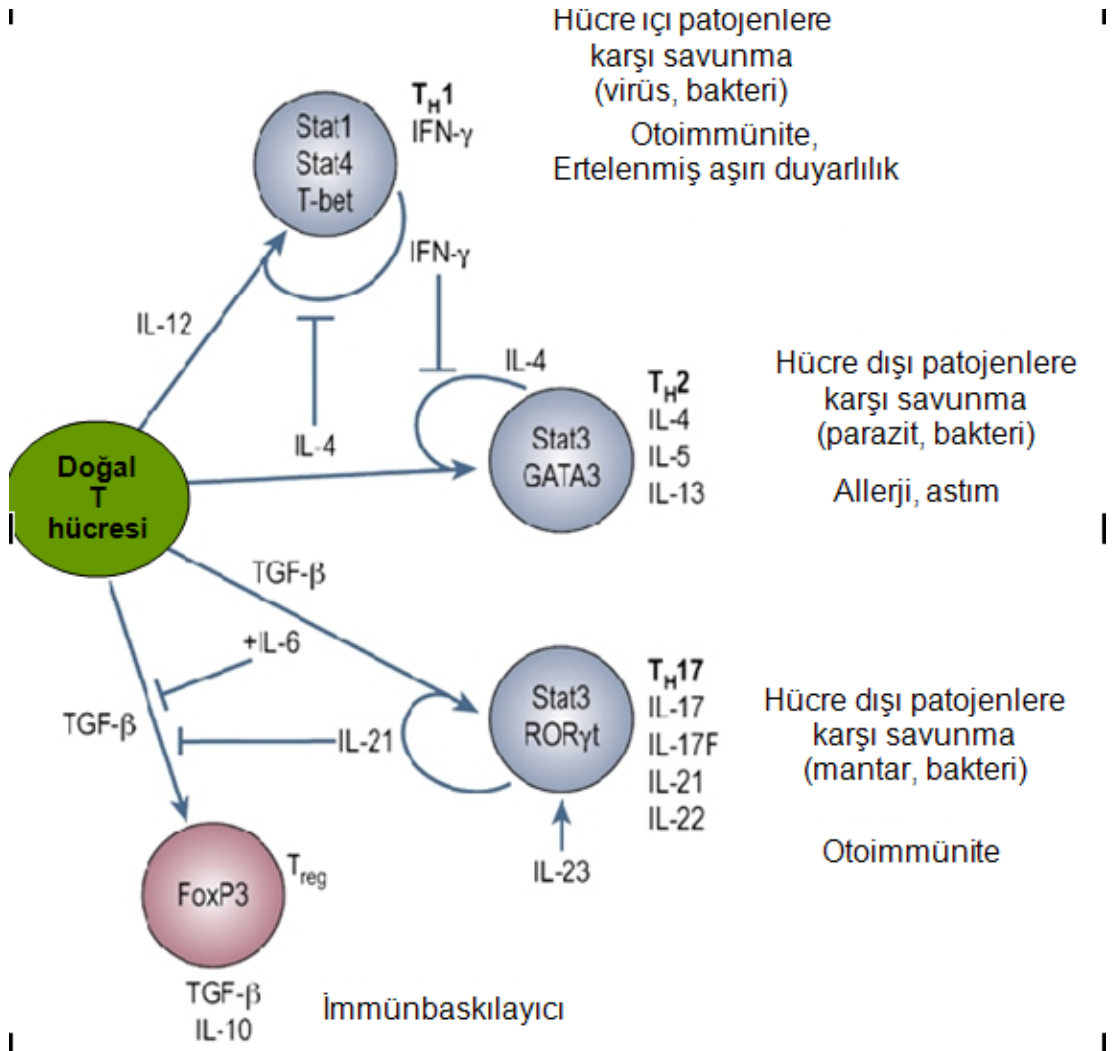
### 1.8. Th17 hücreler

1986'da Coffman ve meslektaşları tarafından farede iki farklı tip Th hücrenin keşfinden beri (IFN $\gamma$  üreten Th1, IL-4 üreten Th2) [30] Th1 hücreler ve Th2 hücreler arasında karşılıklı düzenlenme (Th1-Th2 dengesi) tüm vücutta homeostatik bakım için önemli olduğu düşünülmüştür. Örneğin Th1 hücrelerinin veya Th2 hücrelerinin aşırı ekspresse olması durumunda yani Th1-Th2 dengesindeki düzensizlik Th1 hücrelerin birikmesiyle otoimmün hastalıkların gelişmesi, Th2 hücrelerin birikmesiyle alerjik düzensizliklerin indüksiyonu ile sonuçlanır [31]. Bu yüzden Th1-Th2 dengesinin genel bakışının önerdiği geçtiğimiz 20 yılın genel olarak kabul edildiği immün sistem paradigması immün yanıt ve/veya hastalık gelişiminin moleküler mekanizmasını anlamak için temeldir [32].

Diğer bir yandan otoimmün hastalıklardaki değişiklikler Th1-Th2 paradigması ile açıklanamamıştır. Otoimmün hastalıkların patogenezi için Th1-Th2 hücre temelli mekanizmaların olmadığı çalışmalarıyla ek olarak iki Th hücre alt ünitesi tanımlandı: Th17 hücreler ve düzenleyici Treg hücreler. Bu yeni Th alt üniteleri özellikle Th17 hücreler klasik tanımlanan Th2 aracılı alerjik düzensizliklerin patogenezeine teşvikte bulunabilir [33-39].

Naive T hücreler IL-12 varlığında uyarılıp Th1 hücrelere dönüşür ve transcription factor T-bet ekspresse eder. IL-4 varlığında uyarılan naive T hücreler Th2 hücrelere dönüşür ve transcription factor GATA-3 ekspresse eder [40]. Farelerdeki başlangıç çalışmalarının gösterdiği IL-23 heterodimerik sitokin olup IL-12 ile alt ünitesini paylaşır, IL-17 ekspresyonu indüklenir [41-44], (Şekil 1.8.1). Bununla beraber sonraki çalışmaların ispatladığı IL-23 reseptör sadece aktivasyon sonrası T hücreler üzerinde ekspresse olur ve bu

yüzden IL-23 hafıza T hücrelerde IL-17'yi upregüle edebilir fakat naive T hücrelerden Th17 hücelere dönüşümünde rol oynayamaz [41]. Farede Th17 dönüşümünün anahtarı transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) ve IL-6 olduğu keşfedilmiştir [45-47]. Ek olarak tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and IL-1 $\beta$  farede Th17 dönüşümünü daha fazla artırabilir fakat yalnızca TGF- $\beta$  ve IL-6 varlığında artırır [47-49]. TGF- $\beta$  forkhead box protein 3 (FoxP3) ekspresyone eden düzenleyici T hücrelerin (Treg) dönüşümünü indüklediği gibi çoğu T hücre yanıtını inhibe ettiği iyi bilinir [50]. TGF- $\beta$ 'nin çatışan etkileri hem anti-inflammatuar Treg hücreleri hemde pro-inflammatuar Th17 hücreleri indüklemesidir. Farelerde Treg hücreler naive Th17 hücre dönüşümü için TGF- $\beta$ 'nin bir kaynağı olarak hizmet verebilir. Bir çalışmanın bulgusuna göre IL-6 varlığında Treg hücrelerin kendisi Th17'ye dönüşebilir [51]. Önemli olarak Th17 hücreler Treg hücrelerin baskılayıcı etkisine dirençli olduğu görülür [52, 53].



**Şekil 1.8.1.** Naive CD4<sup>+</sup> T hücrenin farklılaşması (httpwww.nature.comicjournalv85n7images7100114f1)

Th1 ve Th2 hücrelerin dönüşümü farelerde olduğu gibi insanlarda da benzer kuralları izler. Th17 gelişimi farede sadece destekleyici bir rol oynadığı görülen IL-1 $\beta$  naive T hücrelerin insanda IL-17 ekspresyonunun etkili indükleyicisidir. IL-6 ve IL-23 IL-17'yi bir miktar indükler ve IL-1 $\beta$  varlığında Th17 dönüşümünü fazlasıyla artırır [54, 55]. Bu yüzden IL-23 ve IL-1 $\beta$  insanlarda farelerden daha önemli rol oynayabilir. Th17 dönüşümünün insanda IL-23'ün potansiyel rolüne rağmen hala açık değildir [56].

Birkaç çalışmanın gösterdiğine göre TGF- $\beta$ , Th17 dönüşümünde fareler için çok önemli bir sitokindir, aslında insan Th17 gelişimini inhibe eder [53-55]. . TGF- $\beta$  doza bağlı etkilerine bakıldığında yüksek dozda Th17 gelişimini inhibe eder ve Treg hücreleri indüklerken düşük dozda Th17 hücrelerin dönüşümünü indükler. Hem farede hem de insanda IL-12, IL-4, IFN- $\gamma$  Th17 hücrelerin dönüşümünü inhibe eder [42, 44, 52, 54, 55, 57, 58]. IL-17, bununla beraber Th1 ya da Th2 dönüşümünü inhibe etmediği ya da çok zayıf inhibe ettiği görülmüştür ve böylece Th1 ve Th2 hücreleri Th17 hücreleri üzerinde tipik olarak baskındır [48]. TGF- $\beta$  IL-6 ile sinerji gösterip Th17 için anahtar düzenleyici olan transkripsiyon faktör ROR $\gamma$ t'nin ekspresyonunu indükler. Farelerde ROR $\gamma$ t in-vitro ve in-vivo da IL-17 ekspresyonu için hem gerekli hem yeterlidir. T-bet Th1 hattını kontrol eder ve GATA-3 Th2 hattını kontrol eder ROR $\gamma$ t Th17 hattını kontrol ettiği görülür [59].

1986 yılında Mossman ve Coffman bir model hazırladı ki içinde CD4+ Th hücreler kendi çevrelerindeki farklı sitokin profilleriyle düzenlenebilir ve bu hücrelere Th1 ve Th2 adı verilmiştir [30, 60]. Th1 hücreler IFN $\gamma$  üretir ve makrofaj egemen hücre aracılı yanıtı etkinleştirir. Th2 IL-4, IL-5 ve IL-13 üretir ve antikor baskın humoral yanıtı aracılıdır. Th1 IL-12 ile Th2 IL-4 ile değişimi süregeler. Bununla beraber yılların ardından bu paradigma çok yorumlandı [60]. Heterodimerik bir sitokin olan IL-23, IL-12 ile p40 alt ünitesini paylaşır. IL-23, Th17 alt ünitesi gelişiminde gerekli değilken, bu hücrelerin patojenitesi ve yayılması için gereklidir [61]. Bu nedenle IL-12 değil IL-23 eksik farede CIA, EAE ve IBD içeren otoimmün hastalık modellerine karşı hassaslaşır [62]. Transfer edilen otoimmün hastalığa Th17 hücreler Th1 hücrelerden daha fazla ölçüde yatkındır. Th-17 hücreler akciğer ve bağırsak gibi mukozal yüzeylerde hedef bu hücrelere yardım eden CCR4 ve CCR6 adı verilen karakteristik kemokin reseptörlerini ekspresse eder [63]. Th17 hücreler IL-17A ve IL-17F yanında ek sitokinler üretir. IL-22, IL-10 sitokin ailesi IL-17 gibi pek çok aynı yangı genlerini etkinleştirir. IL-17 ve IL-22 ortak veya sinerjistik olarak rol oynar [64]. Diğer önemli Th-17 sitokini IL-21, antikor salgısı ve izotip kaymasını iletir ve Th-17 hücrelerin değişimini güçlendiren önemli bir pozitif geribildirim sitokini gibi hizmet verir [65-67]. CD8+ hücreler ve CD4+ T hücreler IL-17'nin önemli bir kaynağıdır. NKT hücreler IL-17'nin önemli bir kaynağı olduğu rapor edilmiştir [68, 69]. Bu yüzden IL-17 doğal ve kazanılmış immünitede köprüdür ki hem doğal hem de kazanılmış immünite T hücreleri tarafından üretilir ve innate immün yanıtın tipik gen ekspresyon programını aktive eder.

### 1.8.1. IL-17 sitokin ailesi

IL-17A 1995'de ilk tanımlanan üyesidir. Çeşitli hücre tiplerinden IL-6, IL-8 Granulosit colony-stimulating factor (G-CSF) gibi diğer sitokin ve kemokinlerin üretimini indükleyebilir. 2000 - 2002 yılları arasında IL-17 sitokin ailesine ait 5 üye daha keşfedildi ( IL-17B, IL-17C, IL-17D, IL-17E, IL-17F) [70]. IL-17 sitokin ailesi homodimer bulunur. IL-17B ve IL-17F dimer bulunur [71]. IL-17 sitokin ailesinin tüm üyeleri iki ya da daha fazla sistein residüellerine sahiptir [71]. IL-17F'in üç boyutlu yapısı "cystein knot fold" şeklindedir, bu yüzden growth factor'un nötrofilin ailesine benzer. İnsan IL-17 kodlayan gen 6. kromozom üzerindedir [72]. IL-17 sitokin ailesi 20-30 kd benzer molekül ağırlığında olup farklı biyolojik aktivitelere sahiptirler. IL-17 aile üyeleri genel olarak proinflamatory salınımını indüklemesiyle düzenlenen lokal doku inflamasyonunda rol oynar. Aşırı ekspresyon olması birkaç yangısal ve otoimmün hastalık durumunda bulunur.

IL-17A'ya IL-17F %40-55, IL-17B %29, IL-17C %23, IL-17D %25, IL-17E ise %17 homoloji gösterir [73].

IL-17A esas olarak aktif CD4+T hücrelerde ekspresyon olur ancak dinlenme esnasında ekspresyon olmaz. Bunun dışında nötrofiller, eosinofiller ve CD8+T hücreler IL-17A kaynağıdır. IL-17B ve IL-17C dokularda geniş oranda ekspresyon olur. IL-17D geni IL-17B'ye en fazla homolog görünür. İskelet, kalp kası, beyin, akciğer ve pankreasta ekspresyon olur. IL-17D'nin hücre kaynaklı dinlenme esnasındaki CD3+T hücre ve C19+B hücrelerdir. IL-17E geni böbrek, testis, akciğer, adreanal bez, beyin, spinal kord, prostat, trakea düşük oranda ekspresyon olur. IL-17A'dan farklı olarak IL-17E ekspresyonu Th2 hücreyi sınırlandırır [70].

IL-17F'in uzun ve kısa formu olmak üzere iki formu bulundu. IL-17F geninin kısa forma karşı uzun formunun ekspresyonunun düzenlenmesinin mekanizması açık değil fakat translasyonun başlama bölgesinin alternatif kullanımı veya farklı bağlantı sonucu olduğu düşünülüyor. 2 izoform arasında fonksiyonel fark görünmüyor. 2 izoformu da aktive edilmiş CD4+ T hücrelerde ekspresyon olur. Monosit / D.C. bağlı türemiş sitokinler IL-15 ve IL-23 IL-17A'nın indüksiyonu için önemli uyarıcıdır. IL-15 CD4+ T hücreler ve nötrofillerde IL-17A indükleyebildiği gösterilmiştir. IL-23 CD4+ T hücreler ve CD8+ T hücrelerden üretimi için kritiktir [70].

IL-17A, IL-17E ve IL-17F major fonksiyonu sitokin ve kemokin indüksiyonu ile kemoatraktan aktivite göstermektedir. IL-17A ve IL-17F in-vitro ve in-vivo nötrofil dolanması ve aktivasyonunda önemli benzer fonksiyon paylaşır. IL-17E eosinofil dolanması ve Th2 sitokinlerin indüksiyonuna katılır [70].

IL-17 sitokin ailesi host defense mekanizmaya katılır. Örneğin IL-17A insan  $\beta$ -defensin-2 ( hBD-2 ) ve makrofaj inflamatory protein-3 ( MIP-3 ) ekspresyonunu indükleyen en güçlü uyarıcı sitokindir. Hem  $\beta$ -defensin-2 hem de MIP-3 havayolu doğal immünitenin temel komponentleridir [70].



IL-17A ve IL-17F diğer sitokin ve kemokinleri indüksiyonu bir bölümü boyunca çoklu düzeylerde akciğerlere ait yangının düzenlenmesine katılır. Bu yanıtlar infeksiyon patojenlerine karşı önemli karşı koyma mekanizma delilidir ve bu yanıtlarda fonksiyonel eksiklikler IL-17F'in üretiminin abartılı olması havayolu inflamasyonu ve akciğerlere ait hiperaktivitenin ekspresyonuna katkıda bulunabilir. IL-17A ve IL-17F benzer biyolojik fonksiyonlara sahiptir. Rapor edilen fark IL-17F ( kısa formu ) ICAM-1 indükler, oysa IL-17A tarafından ICAM-1 indüksiyonu yalnızca IFN- $\gamma$  kültürde bulunduğu zaman düzenlenir [70].

IL-17D myeloid progenitör hücre proliferasyonunda baskılayıcı etkisi gösterilmiştir. Belki kronik hastalık anemide rol oynayabileceği düşünülüyor [71].

IL-17E sitokin genlerinin farklı bir setini indükler ve Th2 tip immün yanıt ve patolojik değişimlere katılır. IL-17E aşırı ekspresyonu IL-5, IL-13 ve IgE'nin serum düzeylerini artırır.

IL-17R 500 aminoasit ile uzun bir sitoplazmik kuyruğa sahiptir. IL-17R tip1 transmembran reseptörüdür. Tip1 sitokin reseptörü hematopoetin reseptörleri olarak da adlandırılır. İki veya daha fazla sistein residue'sine sahip bölge içerirler. Membran proksimalinde WSXWS ( triptofan-serin-X-triptofan-serin ) motifi içerirler.

IL-17R tek transmembran domain ve büyük sitoplazmik kuyruk içerir. Pek çok hücre tipinde ekspresse edilir. Aynı zamanda her yerde ekspresse edildiği gibi nerdeyse tüm hücreler bu sitokinin potansiyel hedefidir [72]. IL-17 sitokin ailesinin her bir üyesi farklı reseptöre sahiptir. IL-17R'e hem IL-17A hem de IL-17F bağlanır. Diğerleri IL-17BR, IL-17CR, IL-17DR, IL-17ER olarak ayrı reseptörlere sahiptir [73]. IL-17 sinyal iletiminde ek bir alt ünite içerebilir. Bununla beraber IL-17R esas alt ünitedir çünkü IL-17R-/- fare deneylerinde IL-17 reseptörüne bağlanmaz. IL-17R intraselüler bölgede TIR ( Toll/IL-1R ) domainini kapsayabilir. IL-17RA sinyal iletiminde adaptör protein olarak Act1 kullanır. Act1 IL-17RA ile direkt ilişkili olmayıp, SEFIR motifi yoluyla ilişkilidir. Yapılan çalışmalarda IL-6 üretimi için MyD88 ve IRAK4 kullanmaz. TRAF 6 kullandığı ve NF- $\kappa$ B aktivasyonunu etkilediği düşünülüyor [74].

IL-17 reseptör kompleksi multimeriktir. IL-17 en az iki IL-17RA alt ünitesi ve bir IL-17RC alt ünitesinin oluşturduğu bir reseptör kompleksine bağlandığı görünür. Ancak ne oranda birleştikleri tam olarak saptanamamıştır [75]. TNF ve Toll-like reseptörler gibi pek çok reseptör kompleksine benzer [76, 77]. IL-17RA alt üniteleri ligand bağlanan önceki plasma membranında önceden toplanmıştır. IL-17RA da bu düzenlenme ekstraselüler fibronektin 3-like domain aracılığıyla [75, 78]. Bu önceden toplanma muhtemelen diğer reseptörler ile verimsiz etkileşimi önlerken liganda spesifik ve reseptöre hızlı yanıt vermeyi kolaylaştırır [76, 78].

IL-17F sinyal iletiminde hem IL-17RC hem de IL-17RA kullanır, IL-17RC'ye IL-17F'in bağlanma affinitesi IL-17RA'dan daha güçlü görünüyor [79].

### 1.8.2. IL-17F ve astım ilişkisi

IL-17F, ML-1 veya IL-24 olarak da adlandırılır. 153 amino asit içeren bir proteindir. IL-17F kodlayan sekansları 7742bp içerip, 3 ekzona sahiptir. Fonksiyonu nedeniyle astım aday geni olarak incelenir. IL-17F aktive olmuş mast hücreleri, CD4+ T hücreleri ve bazofiller tarafından üretilen sitokinlerden biridir, birincil bronşial epitel hücrelerde protein ekspresyonunu ve IL-6 ve IL-8 kopyalanmasını upregüle edebilir [80]. IL-17F insan karaciğer akciğer ve fetal karaciğer dokuda ekspresse olur ve artmış ekspresyonu alerjik astım hastalarının havayollarında gözlenmiştir. IL-17F çoklu genom taramalarında astımla ilgili fenotipler ve astıma bağlı olan 6p kromozom üzerinde lokalize olmuştur [81, 82].

IL-17F iyi bir astıma duyarlı gen adayıdır. IL-17F Alerjik astım fare modellerinde yangısal hücreler ve bronşial epitel hücrelerde ekspresse olur fakat kontrol farelerin akciğerlerinde yoktur [83].

Astımlı hastaların tükürük örnekleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında IL-17'nin artmış düzeyini içerdiği gösterilmiştir [84]. Alerjik astımlı hastalar ayrıca astımlı olmayan kontrol grubu ile plazmaları karşılaştırıldığında IL-17 düzeyinin artmış olduğu görülmüştür [85]. IL-17'nin alerjik astımda sistemik olarak akciğerde birkaç fonksiyona sahip olduğu düşünülür. İnsan bronşial fibroblast hücreler IL-6, IL-8 ve GRO $\alpha$  üreterek in-vitro IL-17 ile uyarıya yanıt verir [86]. Bu yüzden astım esnasında akciğerde IL-17 ekspresyonunun artması akciğer nötrofillerin aktivasyonu ve birikmesiyle açıklanabilir. Kültüre edilmiş insan havayolu düz kas hücreleri IL-17 ile aktivasyonu üzerinden IL-8 ve IL-6 üretir ve üretim sırasıyla IL-1 $\beta$  ve TNF- $\alpha$  tarafından arttırılır [87, 88].

IL-17 ve TNF- $\alpha$  arasında ortak etki ayrıca insan akciğer epitel hücreler tarafından IL-8 ve IL-6 uyarımında saptanmıştır [89]. Ek olarak nötrofiller üzerinde lokal ve sistemik etkileri IL-6 uyarımı üzerinden oynayan IL-17 ayrıca insan bronşial epitel hücreler tarafından MUC5B ve MUC5AC mucin genlerinin ekspresyonunu indüklediği gösterilmiştir [90]. Şaşırtıcı bir şekilde Th2 sitokinleri IL-4, IL-9 ve IL-13 insan bronşial epitel hücreleri üzerinde aynı etkiye sahip değildir [90]. IL-17'nin üretimi ilk olarak Df ekstraktı ile tekrar uyarılması üzerinden atopik astımlı hastaların PBMCs'den üretilen Th hücre klonları ve CD4+T hücrelere atfedilmiştir [91]. İlginç olarak IL-17'nin üretimi astımlı hastaların bronşial alveolar lavaj (BAL) ve tükürükte CD4+ T hücrelere sınırlandırmamıştır fakat IL-17 ayrıca immunocytochemistry tarafından havayolu eozinofillerde saptanmıştır [86]. Biriken kanıtların önerdiği IL-17 astım ve alerjinin gelişiminde önemli bir patolojik rol oynar [92]. İn-vitro çalışmaların gösterdiğine göre glukokortikoidler insan bronşial fibroblast ve epitel hücreler tarafından sitokin ve kemokinlerin indüksiyonunu engelleyebilir [86, 93] ve bir çalışmanın gösterdiğine göre oral kortikosteroid muamelesi bronşial biopsi örneğinde immunocytochemistry ile saptanan IL-17 düzeyini azalttı [94].

IL-17 düzeyi astımlı hastaların havayolu aşırı hassasiyetinin şiddetinin derecesi ile orantılıdır [95]. IL-17 bronşial fibroblast, epitel hücre ve düz kas hücre aktivasyonunu etkili hale getirebilir. IL-17 insan bronşial fibroblastlar tarafından üretilen IL-6, IL-8, IL-11 ve CXCL1/Gro $\alpha$  [86], insan bronşial epitel hücreler tarafından  $\beta$ -defensin-2, ICAM-1, IL-8, CXCL1, CCL20, G-CSF, MUC5B ve MUC5AC ekspresyon/üretimini [90, 96-101] ve insan havayolu düz kas hücreleri tarafından IL-6 and IL-8 üretimini arttırır [88, 102]. Bununla birlikte bu IL-17 aracılı yangı mediatörleri Th2 aracılı eozinofil baskın alerjik astımın gelişmesine katkıda bulunduğu görülmez IL-8 ve CXCL1/Gro $\alpha$  nötrofiller için güçlü bir kemoatraktan faktördür ve IL-6 granulopoesis, özellikle nötrofil gelişimi için önemlidir [103, 104].

## MATERYAL ve YÖNTEMLER

### 2.1. Materyal

Allerjik Bronşial Astım tanısı klinik ve laboratuvar bulgularına göre konulan 7-16 yaş arası olan (Solunum Fonksiyon Testi yapılmış, geriye dönüşümlü havayolu daralması gösterilmiş, deri testleri ve/veya spesifik IgE ile en az bir allerjene duyarlılığı saptanmış) kişiler alınmıştır. Bronşial Astım dışında atopik olmayan ek bir hastalığa sahip kişiler çalışmaya alınmamıştır.

Bu çalışmaya Akdeniz Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.B.D. İmmünoloji-Allerji Bilim Dalı Allerjik Bronşial Astım tanısı ile izlenen 88 olgu alınmıştır. Kontrol grubu olarak kendisinde ve ailesinde herhangi bir atopik hastalık olmayan ve atopik hastalık geçirme öyküsü de tanımlanmayan 103 sağlıklı erişkinler alınmıştır.

IL-17F geninde 161HIS-ARG A-G polimorfizmi, 126GLU-GLY A-G polimorfizmi, 155VAL-ILE G-A polimorfizmi için genotiplendirilen kontrol grubunun (n=103) %27' si kız, %73' ü erkektir. Hasta grubunun (n=88) ise %41' i kız, %59' u erkekten oluşmuştur.

### 2.2. DNA İzolasyonu

Astım tanısıyla izlenen bireylerden ve kendisinde ya da ailesinde allerji öyküsü olmayan bireylerden EDTA içeren tüplere 1 cc venöz kan alınmış ve DNA ekstraksiyonu yapılmıştır. Gentra DNA Ekstraksiyon kit kullanılarak yapılan DNA izolasyon yöntemi, aşağıda maddeler halinde belirtilmiştir:

- a) 300 µl. kan, 900 µl “red blood cell lysis” ile karıştırıldı. 15 dk. oda ısısında ve karanlıkta inkübasyona bırakıldı.
- b) 1750 g. de 1 dk santrifüj edildi (Kubota 3300 marka). Süpernatant atıldı.
- c) Dipte kalan hücreler 300µl “cell lysis” solüsyonu ile karıştırıldı.
- d) 100 µl “protein precipitation” solüsyonu da eklendi ve 15 sn. vorteks ile iyice karışması sağlandı. 1750 g. de 1 dk. santrifüj edildi.
- e) Süpernatant başka bir tüpe aktarıldı ve üzerine 300 µl. isopropanol ilave edildi. Tüp elle sallanarak DNA' nın kondanse hale gelmesi sağlandı.
- f) 1750 g. de 1 dk santrifüj edildi ve süpernatant atıldı.
- g) 300 µl %70' lik etil alkol eklenip karıştırıldı.

- h) 1750 g. de 1 dk. santrifüj edildi, süpernatant atıldı.
- i) Dipte kalan DNA 100 µl “dehidratation” solüsyonu ile sulandırıldı.
- j) Çalışma başlayana kadar -20 °C’ de bekletildi.

### 2.3. ARMS (Allel Refractory Mutation System) PCR

Herhangi bir restriksiyon enzim kesim bölgesi değişikliğine neden olmayan nokta mutasyonlarının tanımlanmasında yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Hasta bireye ait DNA örneği, mutasyonlu ve normal bölgeye özgü primerler ile iki farklı tüpte, aynı reaksiyon koşulları altında amplifiye edilir. Ayrıca, her iki reaksiyon tüpünün içinde, amplifikasyon kontrolü için kontrol primerler kullanılır. Amplifikasyon sonucu, kontrol bölgenin tüm bireylerde amplifikasyon pozitif olması beklenir. Bununla birlikte, homozigot mutant bireyler, mutant bölge için amplifikasyon pozitif; homozigot normal bireyler, normal bölge için amplifikasyon pozitif ve heterozigotlar hem mutant hem de normal bölge için amplifikasyon pozitif olurlar.

#### 2.3.1. IL-17F geninde 161HIS-ARG A-G; 553. A amino asiti (GeneBank acc. No: NM\_ 052872)

Forward A: 5'-TCACCCCTGTCATCCACCA-3'

Forward G: 5'-TCACCCCTGTCATCCACCG-3'

Reverse: 5'-AAGTGGAGGGAATTGGGGGTCAGAC-3'

PCR ürünü: 125 bp büyüklüğündedir.

Kontrol için kullanılan primerler: (GeneBank acc. No:NM\_ 002046)

gAPDH forward: 5'-TGAACGGGAAGCTCACTGG-3' (773-791)

gAPDH reverse: 5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3' (1060-1079)

PCR ürünü 306 bp büyüklüğündedir.

Diğer iki polimorfizm için de aynı kontrol primerler kullanılmıştır.

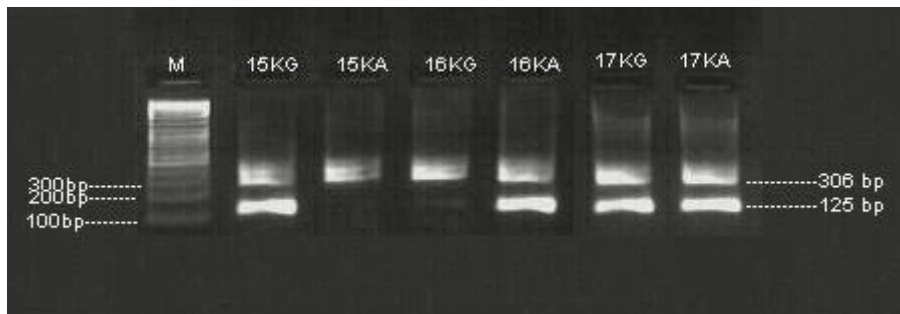
PCR koşulları:

95° C (başlangıç denatürasyon)	2 dk	} 35 döngü
95° C (denatürasyon)	1 dk	
62° C (bağlanma)	1 dk	
72° C (uzama)	30 sn	
72° C (son uzama)	5 dk	

**Tablo 2.3.1.:** 161HİS-ARG A-G PCR için kullanılan kimyasallar

PCR	A tüpü	G tüpü	gADPH tüpü
Forward A primer	0.5µM	---	---
Forward G primer	---	0.5µM	---
Reverse primer	0.5µM	0.5µM	---
gADPH F primer	---	---	0.16 µM
gADPH R primer	---	---	0.16 µM
dNTP	0.08mM	0.08mM	0.08mM
MgCl <sub>2</sub>	0.4 mM	0.4 mM	0.4 mM
Buffer	1X	1X	1X
Taq. Pol	0.75 U	0.75 U	0.75 U
Kalıp DNA	2.5 µl	2.5 µl	2.5 µl
H <sub>2</sub> O	13.65 µl	13.65 µl	15.35 µl
Toplam hacim	25µl	25µl	25µl

PCR için BioRad DNAEngine Peltier Thermal Cycler cihazı kullanılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri %2' lik agaroz jelde yürütüldü. Daha sonra jel etidium bromide (10mg/ml) ile boyanarak jel görüntüleme cihazında (Vilber Lourmat) görüntülendi. Sadece G aleli için PCR ürününün bulunması durumunda genotip GG; sadece A aleli için PCR ürününün bulunması durumunda ise genotip AA olarak ifade edildi. Her iki alel için PCR ürününün bulunması halinde genotip GA olarak değerlendirildi (şekil 2.3.1.).



**Şekil 2.3.1.** 161HİS-ARG A-G polimorfizminde ARMS-PCR ile tespit edilen genotipler 15K GG genotipine sahip, 16K AA genotipine sahip, 17K GA genotipine sahip.

**2.3.2. IL-17F geninde 126GLU-GLY A-G; 448. A amino asiti (GeneBank acc. No: NM\_ 052872)**

Forward A: 5'-GAATTCCGTTCCCATCCAGCAAGA-3'

Forward G: 5'-GAATTCCGTTCCCATCCAGCAAGG-3'

Reverse: 5'-AAGTGGAGGGAATTGGGGGTCAGAC-3'

PCR ürünü: 235bp büyüklüğündedir.

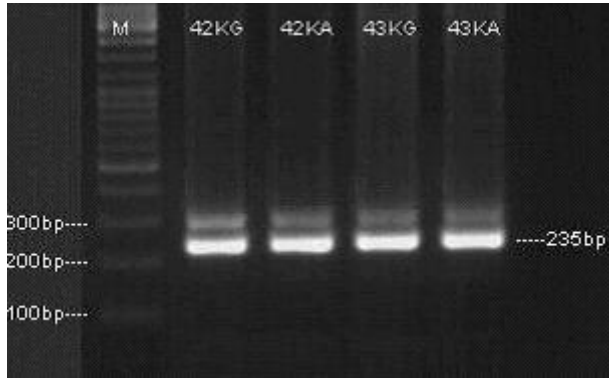
PCR koşulları:

95° C (başlangıç denatürasyon)	2 dk	
95° C (denatürasyon)	1 dk	} 35 döngü
63° C (bağlanma)	1 dk	
72° C (uzama)	30 sn	
72° C (son uzama)	5 dk	

**Tablo 2.3.2.** 126GLU-GLY A-G PCR için kullanılan kimyasallar

PCR	A tüpü	G tüpü	gADPH tüpü
Forward A primer	0.5µM	---	---
Forward G primer	---	0.5µM	---
Reverse primer	0.5µM	0.5µM	---
gADPH F primer	---	---	0.16 µM
gADPH R primer	---	---	0.16 µM
dNTP	0.08mM	0.08mM	0.08mM
MgCl <sub>2</sub>	0.4 mM	0.4 mM	0.4 mM
Buffer	1X	1X	1X
Taq. Pol	0.75 U	0.75 U	0.75 U
Kalıp DNA	2.5 µl	2.5 µl	2.5 µl
H <sub>2</sub> O	13.65 µl	13.65 µl	15.35 µl
Toplam hacim	25µl	25µl	25µl

PCR için BioRad DNAEngine Peltier Thermal Cycler cihazı kullanılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri %2' lik agaroz jelde yürütüldü. Daha sonra jel etidium bromide (10mg/ml) ile boyanarak jel görüntüleme cihazında (Vilber Lourmat) görüntülendi. Her iki alel için PCR ürününün bulunması halinde genotip GA olarak değerlendirilmiştir (şekil 2.3.2.).



**Şekil 2.3.2.** 126Glu-Gly A-G polimorfizminde ARMS-PCR ile tespit edilen genotipler: 42K GA genotipine sahiptir, 43K GA genotipine sahiptir.



**2.3.3. IL-17F geninde 155VAL-ILE G-A; 534. G amino asiti (GeneBank acc. No:NM\_052872)**

Forward G: TGA CTGTTGGCTGCACCTGCG

Forward A: TGA CTGTTGGCTGCACCTGCA

Reverse : AAGTGGAGGGAATTGGGGGTCAGAC

PCR ürünü: 147 bp büyüklüğündedir.

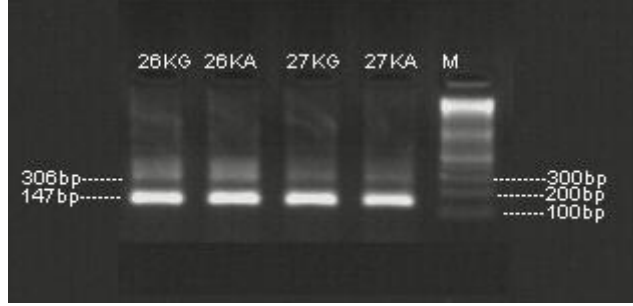
PCR koşulları:

95° C (başlangıç denatürasyon)	2 dk	}	35 döngü
95° C (denatürasyon)	1 dk		
64° C (bağlanma)	1 dk		
72° C (uzama)	30 sn		
72° C (son uzama)	5 dk		

**Tablo 2.3.3.** 155VAL-ILE G-A PCR için kullanılan kimyasallar

PCR	A tüpü	G tüpü	gADPH tüpü
Forward A primer	0.5µM	---	---
Forward G primer	---	0.5µM	---
Reverse primer	0.5µM	0.5µM	---
gAPDH F primer	---	---	0.16 µM
gADPH R primer	---	---	0.16 µM
dNTP	0.08mM	0.08mM	0.08mM
MgCl <sub>2</sub>	0.4 mM	0.4 mM	0.4 mM
Buffer	1X	1X	1X
Taq. Pol	0.75 U	0.75 U	0.75 U
Kalıp DNA	2.5 µl	2.5 µl	2.5 µl
H <sub>2</sub> O	13.65 µl	13.65 µl	15.35 µl
Toplam hacim	25µl	25µl	25µl

PCR için BioRad DNAEngine Peltier Thermal Cycler cihazı kullanılmıştır. Elde edilen PCR ürünleri %2' lik agaroz jelde yürütüldü. Daha sonra jel etidium bromide (10mg/ml) ile boyanarak jel görüntüleme cihazında (Vilber Lourmat) görüntülendi. Her iki alel için PCR ürününün bulunması halinde genotip GA olarak değerlendirilmiştir (şekil 2.3.3.).



**Şekil 2.3.3.** 155Val-İle G-A polimorfizminde ARMS-PCR ile tespit edilen genotipler: 26K GA genotipine sahiptir, 27K GA genotipine sahiptir.

## BULGULAR

### 3.1. His161Arg A>G IL-17F Polimorfizminin ARMS-PCR Sonuçları

Çalışmaya alınan 88 hasta ve 103 kontrole ait IL-17F geninin 553. A amino asit gen polimorfizmine ait sonuçlar tablo 3.1.1.'de özetlenmiştir. Bulunan tüm genotip frekansları Hardy-Weinberg dengesi açısından test edilmiş ve sınırlar içinde oldukları tespit edilmiştir. Astım ve sağlıklı kontroller arasındaki allel karşılaştırmaları Chi-Square test kullanılarak yapılmıştır. A ve G alelleri için odds ratio hesaplaması yapılmıştır Tablo 3.1.2.'de gösterilmiştir.

**Tablo 3.1.1.** His161Arg A>G IL-17F Polimorfizminin astım hastaları ve kontrol grubu ile karşılaştırılması

			genotip			
			AA	AG	GG	Total
grup	Astım	sayı	75	13	0	88
		% grup içinde	85,2%	14,8%	,0%	100,0%
		% hasta ve kontrol grupları içinde	49,7%	33,3%	,0%	46,1%
Kontrol	sayı	76	26	1	103	
	% grup içinde	73,8%	25,2%	1,0%	100,0%	
	% hasta ve kontrol grupları içinde	50,3%	66,7%	100,0%	53,9%	
Total	sayı	151	39	1	191	
	% grup içinde	79,1%	20,4%	,5%	100,0%	
	% hasta ve kontrol grupları içinde	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

**Tablo3.1.2.** Hasta ve kontrol gruplarının A ve G alelleri arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır ( $p=0.066>0.05$ ,  $OR=1.902$ ).

Pozisyon	Grup	A	G	Total
His161Arg	Hasta	163 (%92)	13 (%08)	176
	Kontrol	178 (%86)	27 (%14)	205
	Total	341	40	381

### **3.2. Glu126Gly A>G IL-17F Polimorfizminin ARMS-PCR Sonuçları**

Çalışmaya alınan 10 hasta ve 70 kontrole ait IL-17F geninin 448. A amino asidine ait gen polimorfizmi tümünde GA genotipinde çıkmıştır. Değişik ışılarda pek çok denemenin yapılmasına rağmen tek nkeleotit gen polimorfizmini ortaya koymak için ARMS-PCR yöntemi yetersiz kalmıştır.

### **3.3. Val155Ile G>A IL-17F Polimorfizminin ARMS-PCR Sonuçları**

Çalışmaya alınan 10 hasta ve 70 kontrole ait IL-17F geninin 534. G amino asidine ait gen polimorfizmi Türk toplumunda polimorfik olmadığı bulunmuştur. Değişik ışılarda pek çok denemenin yapılmasına rağmen tek nkeleotit gen polimorfizmini ortaya koymak için ARMS-PCR yöntemi yetersiz kalmıştır.

## TARTIŞMA

IL-17F yeni keşfedilmiş olup IL-17 gen ailesinin bir üyesidir. IL-17 gen ailesi (IL-17 A-F) proinflammatuvar (yangı oluşturucu) etkileriyle hücre dışı patojenlere karşı dirençte önemli olan sitokinlerdir. Bu sitokinlerin ve öncelikle IL-17 ve IL-22 yapan Th17 hücrelerin, birçok oto immün, yangısal hastalığın patogeneğinde önemli rolü olduğu bildirilmiştir. IL-17 F in kodlayan sekansları 7742bp içerip, 3 ekzona sahiptir. IL-17F çoklu genom taramalarında astımla ilgili fenotipler ve astımla ilişkili bulunan 6p kromozom bölgesi üzerinde lokalize olmuştur [80]. IL-17F polimorfizmi His161Arg amino asit değişimi IL-17F'in 3. ekzonundadır. Bu polimorfizmin IL-17F yapımına etkisi çeşitli hastalıklarda test edilip bakılmıştır. Toplumdan topluma farklılık göstermekle birlikte bir varsayıma göre 161Arg homozigot olması durumunda astıma karşı doğal bir koruyucu olduğu düşünülüyor [105].

Astım da genetik etmenlerin önemli olduğu bilinmektedir fakat kalıtımın biçimi açık değildir. Genetik etmenlerin astımda %36-79 arasında rol oynadığı tahmin edilmektedir [5-7].

IL-17F bronşial epitel hücrelerde ve endotel hücrelerde IL-6, IL-8, GRO- $\alpha$ , ENA-78 'i indüklediği bilinmektedir. Bu etkileriyle IL-17F havayolu yangısına sebep olup, sürdürebilir. Yangı oluşturucu etkileri olan IL-17F'in bloke edilmesi havayolu yangısal hastalıkların düzenlenmesinde etkili bir strateji olabilir. IL-17F Alerjik astım fare modellerinde yangısal hücreler ve bronşial epitel hücrelerde ekspresse olur fakat kontrol farelerin akciğerlerinde olmadığı gösterilmiştir. Bu nedenle IL-17F astım patogeneğinde önemli olabilecek iyi bir gen adayıdır [70, 80, 106-108].

Biz bu çalışmada 126Glu-Gly, 155Val-Ile ve 161His-Arg IL-17F polimorfizmlerinin Türk toplumundaki dağılımını ve çocukluk çağı astım hastaları ile ilişkisini inceledik.

Hizawa ve arkadaşlarının [105] yaptığı çalışmada Japon toplumunda 435 sağlıklı kontrol grubu ve 432 astım hastası almıştır. His161Arg IL-17F polimorfizminin Arg homozigot olduğu durumda astıma karşı doğal bir koruyucu olduğunu bildirmişlerdir. Ramsey ve arkadaşlarının [109] yaptığı çalışmada Afrika-Amerikan ve Avrupa-Amerikan toplumlarında 1027 olgu alındı ve His161Arg değişkenini içeren IL-17F polimorfizmleri astım hastaları ve sağlıklı kontrol grubu ile arasında anlamlı bir ilişki bulunmadığını rapor etmişlerdir. Seiderer ve arkadaşlarının [110] yaptığı çalışmaya 489 Chron's hastası, 216 ulseratif kolit hastası ve 967 sağlıklı kontrol grubu alınıp His161Arg IL-17F polimorfizmi çalışılmış ancak aralarında anlamlı bir ilişkili bulunmamıştır. Bizim çalışmamızda Türk toplumundaki çocukluk çağı astım hastaları ve sağlıklı kontrol grubu arasında her ne kadar astımlı hastalarda A

allelinde bir artma gözlediyssek de istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. Japon toplumunda yapılan çalışma ile bir karşılaştırma yapacak olursak allel ve genotip dağılımlarının benzer olduğu görülmektedir (Tablo-4.1.) GG genotipinin astıma karşı düşük oranda bir koruyucu etkisi veya A allelinin yatkınlığa yol açıcı etkisini olgu sayısının kısıtlı olması nedeniyle gösterememiş olabiliriz.

**Tablo 4.1.** Türk toplumu ve Japon toplumu arasındaki astım hastaları ve kontrol grubu arasındaki His161Arg polimorfizm sonuçlarının karşılaştırılması

Pozisyon	Genotip	Astım		Kontrol	
		Japon (%)	Türk (%)	Japon (%)	Türk (%)
His161Arg	AA	76	85	79	74
	AG	23	15	18	25
	GG	0	0	2	1

Verilerimiz IL-17 F His161Arg in Türk toplumunda da polimorfik olduğunu, 126Glu-Gly ve 155Val-Ile IL-17F polimorfizminin belirlenmesinde ARMS-PCR yönteminin yetersiz kaldığını düşünüyoruz. Japon toplumunda yapılan çalışmada aminoasit değişimine neden olan 126Glu-Gly ve 155Val-Ile IL-17F polimorfizmlerinin polimorfik olmadığını saptamışlardır [105]. Bu konu toplumumuzda araştırma yapacak bilim insanları için bir temel oluşturabilir.

## SONUÇLAR

Bu çalışmada 126Glu-Gly, 155Val-Ile, 161His-Arg IL-17F polimorfizmleri ARMS-PCR yöntemi ile çalışılmış olup aşağıdaki sonuçlar bulunmuştur.

1. 161His-Arg IL-17F polimorfizminin Türk toplumunda çocukluk çağı astım hastaları ve sağlıklı kontrol grubu arasında istatistiksel anlamda bir fark olmadığı tespit edilmiştir.
2. 126Glu-Gly ve 155Val-Ile IL-17F polimorfizmlerinin belirlenmesinde ARMS-PCR yöntemi teknik olarak yetersiz kalmıştır.

## KAYNAKLAR

1. Güngen, A.C., *Astım*. 1 ed, ed. Z. Kartaloğlu, Kunter, E. 2007. 38-40, 46.
2. Asher, M.I., et al., *International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC): rationale and methods*. Eur Respir J, 1995. **8**(3): p. 483-91.
3. Beasley, R., *The burden of asthma with specific reference to the United States*. J Allergy Clin Immunol, 2002. **109**(5 Suppl): p. S482-9.
4. Kierszenbaum, A.L., *Histoloji ve Hücre Biyolojisi Solunum Sistemi*, ed. R. Demir. 2006. 353.
5. Duffy, D.L., et al., *Genetics of asthma and hay fever in Australian twins*. Am Rev Respir Dis, 1990. **142**(6 Pt 1): p. 1351-8.
6. Hopp, R.J., et al., *Genetic analysis of allergic disease in twins*. J Allergy Clin Immunol, 1984. **73**(2): p. 265-70.
7. Nieminen, M.M., J. Kaprio, and M. Koskenvuo, *A population-based study of bronchial asthma in adult twin pairs*. Chest, 1991. **100**(1): p. 70-5.
8. Hoffjan, S. and C. Ober, *Present status on the genetic studies of asthma*. Curr Opin Immunol, 2002. **14**(6): p. 709-17.
9. Hoffjan, S., D. Nicolae, and C. Ober, *Association studies for asthma and atopic diseases: a comprehensive review of the literature*. Respir Res, 2003. **4**: p. 14.
10. Ober, C. and S. Hoffjan, *Asthma genetics 2006: the long and winding road to gene discovery*. Genes Immun, 2006. **7**(2): p. 95-100.
11. Gemicioğlu, B., *Tanımdan Tedaviye Astım*. Patogeneze Genel Bakış, ed. B. Gemicioğlu. 2004. 56.
12. Gemicioğlu, B., *Tanımdan Tedaviye Astım*. Çocuk Astımı, ed. B. Gemicioğlu. 2004. 619.
13. Özbal, Y., *Temel İmmünoloji*. 2 ed. İmmün Sistem. 2000. 11.



14. Abbas, A.K., Lichtman, A. H., *Temel İmmünoloji*. 1 ed. İmmün Sistem Giriş, ed. Y. Camcıoğlu, Deniz, G. 2007. 1.
15. Basset, C., et al., *Innate immunity and pathogen-host interaction*. Vaccine, 2003. **21 Suppl 2**: p. S12-23.
16. Abreu, M.T. and M. Arditi, *Innate immunity and toll-like receptors: clinical implications of basic science research*. J Pediatr, 2004. **144**(4): p. 421-9.
17. Kierszenbaum, A.L., *Histoloji ve Hücre Biyolojisi İmmün-Lenfatik Sistem*, ed. R. Demir. 2006. 268.
18. Özbal, Y., *Temel İmmünoloji*. 2 ed. İmmün Cevap. 2000. 203, 204.
19. Abbas, A.K., Lichtman, A. H., *Temel İmmünoloji*. 1 ed. İmmün Sistem Giriş, ed. Y. Camcıoğlu, Deniz, G. 2007. 3, 4.
20. Kierszenbaum, A.L., *Histoloji ve Hücre Biyolojisi İmmün-Lenfatik Sistem*, ed. R. Demir. 2006. 268-270.
21. Özbal, Y., *Temel İmmünoloji*. 2 ed. İmmün Cevap. 2000. 12-14.
22. Abbas, A.K., Lichtman, A. H., *Temel İmmünoloji*. 1 ed. İmmün Sistem Giriş, ed. Y. Camcıoğlu, Deniz, G. 2007. 15.
23. Abbas, A.K., Lichtman, A. H., *Temel İmmünoloji*. 1 ed. İmmün Sistem Giriş, ed. Y. Camcıoğlu, Deniz, G. 2007. 9.
24. Kierszenbaum, A.L., *Histoloji ve Hücre Biyolojisi İmmün-Lenfatik Sistem*, ed. R. Demir. 2006. 151-154.
25. Özbal, Y., *Temel İmmünoloji*. 2 ed. İmmün Cevap. 2000. 46.
26. [www.aof.anadolu.edu.tr/kitap/EHSM//1213/unite10.pdf](http://www.aof.anadolu.edu.tr/kitap/EHSM//1213/unite10.pdf).
27. Özbal, Y., *Temel İmmünoloji*. 2 ed. İmmün Cevap. 2000. 23.
28. Yeğin, O., *Temel İmmünoloji ve İmmün Eksiklik Hastalıkları*. Ontogeni. 1991. 12, 17.
29. Kierszenbaum, A.L., *Histoloji ve Hücre Biyolojisi İmmün-Lenfatik Sistem*, ed. R. Demir. 2006. 271, 272.
30. Mosmann, T.R., et al., *Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins*. J Immunol, 1986. **136**(7): p. 2348-57.

31. Bach, J.F., *The effect of infections on susceptibility to autoimmune and allergic diseases*. N Engl J Med, 2002. **347**(12): p. 911-20.
32. Abbas, A.K., K.M. Murphy, and A. Sher, *Functional diversity of helper T lymphocytes*. Nature, 1996. **383**(6603): p. 787-93.
33. Ferber, I.A., et al., *Mice with a disrupted IFN-gamma gene are susceptible to the induction of experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE)*. J Immunol, 1996. **156**(1): p. 5-7.
34. Jones, L.S., et al., *IFN-gamma-deficient mice develop experimental autoimmune uveitis in the context of a deviant effector response*. J Immunol, 1997. **158**(12): p. 5997-6005.
35. Krakowski, M. and T. Owens, *Interferon-gamma confers resistance to experimental allergic encephalomyelitis*. Eur J Immunol, 1996. **26**(7): p. 1641-6.
36. Manoury-Schwartz, B., et al., *High susceptibility to collagen-induced arthritis in mice lacking IFN-gamma receptors*. J Immunol, 1997. **158**(11): p. 5501-6.
37. Ring, G.H., et al., *Increased susceptibility to immunologically mediated glomerulonephritis in IFN-gamma-deficient mice*. J Immunol, 1999. **163**(4): p. 2243-8.
38. Vermeire, K., et al., *Accelerated collagen-induced arthritis in IFN-gamma receptor-deficient mice*. J Immunol, 1997. **158**(11): p. 5507-13.
39. Willenborg, D.O., et al., *IFN-gamma plays a critical down-regulatory role in the induction and effector phase of myelin oligodendrocyte glycoprotein-induced autoimmune encephalomyelitis*. J Immunol, 1996. **157**(8): p. 3223-7.
40. Murphy, K.M. and S.L. Reiner, *The lineage decisions of helper T cells*. Nat Rev Immunol, 2002. **2**(12): p. 933-44.
41. Aggarwal, S., et al., *Interleukin-23 promotes a distinct CD4 T cell activation state characterized by the production of interleukin-17*. J Biol Chem, 2003. **278**(3): p. 1910-4.
42. Harrington, L.E., et al., *Interleukin 17-producing CD4+ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages*. Nat Immunol, 2005. **6**(11): p. 1123-32.

43. Langrish, C.L., et al., *IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation*. J Exp Med, 2005. **201**(2): p. 233-40.
44. Park, H., et al., *A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17*. Nat Immunol, 2005. **6**(11): p. 1133-41.
45. Bettelli, E., et al., *Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells*. Nature, 2006. **441**(7090): p. 235-8.
46. Mangan, P.R., et al., *Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage*. Nature, 2006. **441**(7090): p. 231-4.
47. Veldhoen, M., et al., *TGFbeta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells*. Immunity, 2006. **24**(2): p. 179-89.
48. Nakae, S., et al., *Phenotypic differences between Th1 and Th17 cells and negative regulation of Th1 cell differentiation by IL-17*. J Leukoc Biol, 2007. **81**(5): p. 1258-68.
49. Sutton, C., et al., *A crucial role for interleukin (IL)-1 in the induction of IL-17-producing T cells that mediate autoimmune encephalomyelitis*. J Exp Med, 2006. **203**(7): p. 1685-91.
50. Li, M.O., et al., *Transforming growth factor-beta regulation of immune responses*. Annu Rev Immunol, 2006. **24**: p. 99-146.
51. Xu, L., et al., *Cutting edge: regulatory T cells induce CD4+CD25-Foxp3- T cells or are self-induced to become Th17 cells in the absence of exogenous TGF-beta*. J Immunol, 2007. **178**(11): p. 6725-9.
52. Annunziato, F., et al., *Phenotypic and functional features of human Th17 cells*. J Exp Med, 2007. **204**(8): p. 1849-61.
53. Evans, H.G., et al., *Optimal induction of T helper 17 cells in humans requires T cell receptor ligation in the context of Toll-like receptor-activated monocytes*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007. **104**(43): p. 17034-9.
54. Acosta-Rodriguez, E.V., et al., *Interleukins 1beta and 6 but not transforming growth factor-beta are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells*. Nat Immunol, 2007. **8**(9): p. 942-9.

55. Wilson, N.J., et al., *Development, cytokine profile and function of human interleukin 17-producing helper T cells*. Nat Immunol, 2007. **8**(9): p. 950-7.
56. Chen, Z., et al., *Distinct regulation of interleukin-17 in human T helper lymphocytes*. Arthritis Rheum, 2007. **56**(9): p. 2936-46.
57. Amadi-Obi, A., et al., *TH17 cells contribute to uveitis and scleritis and are expanded by IL-2 and inhibited by IL-27/STAT1*. Nat Med, 2007. **13**(6): p. 711-8.
58. Hoeve, M.A., et al., *Divergent effects of IL-12 and IL-23 on the production of IL-17 by human T cells*. Eur J Immunol, 2006. **36**(3): p. 661-70.
59. Ivanov, I.I., et al., *The orphan nuclear receptor ROR $\gamma$  directs the differentiation program of proinflammatory IL-17+ T helper cells*. Cell, 2006. **126**(6): p. 1121-33.
60. Steinman, L., *A brief history of T(H)17, the first major revision in the T(H)1/T(H)2 hypothesis of T cell-mediated tissue damage*. Nat Med, 2007. **13**(2): p. 139-45.
61. McGeachy, M.J., et al., *TGF-beta and IL-6 drive the production of IL-17 and IL-10 by T cells and restrain T(H)-17 cell-mediated pathology*. Nat Immunol, 2007. **8**(12): p. 1390-7.
62. Langrish, C.L., et al., *IL-12 and IL-23: master regulators of innate and adaptive immunity*. Immunol Rev, 2004. **202**: p. 96-105.
63. Acosta-Rodriguez, E.V., et al., *Surface phenotype and antigenic specificity of human interleukin 17-producing T helper memory cells*. Nat Immunol, 2007. **8**(6): p. 639-46.
64. Liang, S.C., et al., *Interleukin (IL)-22 and IL-17 are coexpressed by Th17 cells and cooperatively enhance expression of antimicrobial peptides*. J Exp Med, 2006. **203**(10): p. 2271-9.
65. Korn, T., et al., *IL-21 initiates an alternative pathway to induce proinflammatory T(H)17 cells*. Nature, 2007. **448**(7152): p. 484-7.
66. Nurieva, R., et al., *Essential autocrine regulation by IL-21 in the generation of inflammatory T cells*. Nature, 2007. **448**(7152): p. 480-3.
67. Zhou, L., et al., *IL-6 programs T(H)-17 cell differentiation by promoting sequential engagement of the IL-21 and IL-23 pathways*. Nat Immunol, 2007. **8**(9): p. 967-74.

68. Liu, X.K., J.L. Clements, and S.L. Gaffen, *Signaling through the murine T cell receptor induces IL-17 production in the absence of costimulation, IL-23 or dendritic cells*. *Mol Cells*, 2005. **20**(3): p. 339-47.
69. Stark, M.A., et al., *Phagocytosis of apoptotic neutrophils regulates granulopoiesis via IL-23 and IL-17*. *Immunity*, 2005. **22**(3): p. 285-94.
70. Kawaguchi, M., et al., *IL-17 cytokine family*. *J Allergy Clin Immunol*, 2004. **114**(6): p. 1265-73; quiz 1274.
71. Starnes, T., et al., *Cutting edge: IL-17D, a novel member of the IL-17 family, stimulates cytokine production and inhibits hemopoiesis*. *J Immunol*, 2002. **169**(2): p. 642-6.
72. Gaffen, S.L., *Biology of recently discovered cytokines: interleukin-17-- a unique inflammatory cytokine with roles in bone biology and arthritis*. *Arthritis Res Ther*, 2004. **6**(6): p. 240-7.
73. <http://en.wikipedia.org/wiki/IL-17>.
74. Chang, S.H., H. Park, and C. Dong, *Act1 adaptor protein is an immediate and essential signaling component of interleukin-17 receptor*. *J Biol Chem*, 2006. **281**(47): p. 35603-7.
75. Kramer, J.M., et al., *Evidence for ligand-independent multimerization of the IL-17 receptor*. *J Immunol*, 2006. **176**(2): p. 711-5.
76. Chan, F.K., *Three is better than one: pre-ligand receptor assembly in the regulation of TNF receptor signaling*. *Cytokine*, 2007. **37**(2): p. 101-7.
77. Latz, E., et al., *Ligand-induced conformational changes allosterically activate Toll-like receptor 9*. *Nat Immunol*, 2007. **8**(7): p. 772-9.
78. Kramer, J.M., et al., *Cutting edge: identification of a pre-ligand assembly domain (PLAD) and ligand binding site in the IL-17 receptor*. *J Immunol*, 2007. **179**(10): p. 6379-83.
79. Kuestner, R.E., et al., *Identification of the IL-17 receptor related molecule IL-17RC as the receptor for IL-17F*. *J Immunol*, 2007. **179**(8): p. 5462-73.
80. Kawaguchi, M., et al., *Identification of a novel cytokine, ML-1, and its expression in subjects with asthma*. *J Immunol*, 2001. **167**(8): p. 4430-5.
81. Haagerup, A., et al., *Asthma and atopy - a total genome scan for susceptibility genes*. *Allergy*, 2002. **57**(8): p. 680-6.

82. Wjst, M., et al., *A genome-wide search for linkage to asthma. German Asthma Genetics Group*. Genomics, 1999. **58**(1): p. 1-8.
83. Suzuki, S., et al., *Expression of interleukin-17F in a mouse model of allergic asthma*. Int Arch Allergy Immunol, 2007. **143 Suppl 1**: p. 89-94.
84. Lee, E., et al., *Increased expression of interleukin 23 p19 and p40 in lesional skin of patients with psoriasis vulgaris*. J Exp Med, 2004. **199**(1): p. 125-30.
85. Wong, C.K., et al., *Proinflammatory cytokines (IL-17, IL-6, IL-18 and IL-12) and Th cytokines (IFN-gamma, IL-4, IL-10 and IL-13) in patients with allergic asthma*. Clin Exp Immunol, 2001. **125**(2): p. 177-83.
86. Molet, S., et al., *IL-17 is increased in asthmatic airways and induces human bronchial fibroblasts to produce cytokines*. J Allergy Clin Immunol, 2001. **108**(3): p. 430-8.
87. Dragon, S., et al., *IL-17 enhances IL-1beta-mediated CXCL-8 release from human airway smooth muscle cells*. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2007. **292**(4): p. L1023-9.
88. Henness, S., et al., *IL-17A augments TNF-alpha-induced IL-6 expression in airway smooth muscle by enhancing mRNA stability*. J Allergy Clin Immunol, 2004. **114**(4): p. 958-64.
89. van den Berg, A., et al., *Interleukin-17 induces hyperresponsive interleukin-8 and interleukin-6 production to tumor necrosis factor-alpha in structural lung cells*. Am J Respir Cell Mol Biol, 2005. **33**(1): p. 97-104.
90. Chen, Y., et al., *Stimulation of airway mucin gene expression by interleukin (IL)-17 through IL-6 paracrine/autocrine loop*. J Biol Chem, 2003. **278**(19): p. 17036-43.
91. Hashimoto, T., et al., *Comparison of IL-17 production by helper T cells among atopic and nonatopic asthmatics and control subjects*. Int Arch Allergy Immunol, 2005. **137 Suppl 1**: p. 51-4.
92. Linden, A., *Rationale for targeting interleukin-17 in the lungs*. Curr Opin Investig Drugs, 2003. **4**(11): p. 1304-12.
93. Linden, A., *Role of interleukin-17 and the neutrophil in asthma*. Int Arch Allergy Immunol, 2001. **126**(3): p. 179-84.

94. Chakir, J., et al., *Airway remodeling-associated mediators in moderate to severe asthma: effect of steroids on TGF-beta, IL-11, IL-17, and type I and type III collagen expression*. J Allergy Clin Immunol, 2003. **111**(6): p. 1293-8.
95. Barczyk, A., W. Pierzchala, and E. Sozanska, *Interleukin-17 in sputum correlates with airway hyperresponsiveness to methacholine*. Respir Med, 2003. **97**(6): p. 726-33.
96. Jones, C.E. and K. Chan, *Interleukin-17 stimulates the expression of interleukin-8, growth-related oncogene-alpha, and granulocyte-colony-stimulating factor by human airway epithelial cells*. Am J Respir Cell Mol Biol, 2002. **26**(6): p. 748-53.
97. Kao, C.Y., et al., *IL-17 markedly up-regulates beta-defensin-2 expression in human airway epithelium via JAK and NF-kappaB signaling pathways*. J Immunol, 2004. **173**(5): p. 3482-91.
98. Kao, C.Y., et al., *Up-regulation of CC chemokine ligand 20 expression in human airway epithelium by IL-17 through a JAK-independent but MEK/NF-kappaB-dependent signaling pathway*. J Immunol, 2005. **175**(10): p. 6676-85.
99. Kawaguchi, M., et al., *Modulation of bronchial epithelial cells by IL-17*. J Allergy Clin Immunol, 2001. **108**(5): p. 804-9.
100. Laan, M., et al., *IL-17-induced cytokine release in human bronchial epithelial cells in vitro: role of mitogen-activated protein (MAP) kinases*. Br J Pharmacol, 2001. **133**(1): p. 200-6.
101. Prause, O., et al., *Pharmacological modulation of interleukin-17-induced GCP-2-, GRO-alpha- and interleukin-8 release in human bronchial epithelial cells*. Eur J Pharmacol, 2003. **462**(1-3): p. 193-8.
102. Vanaudenaerde, B.M., et al., *Interleukin-17 stimulates release of interleukin-8 by human airway smooth muscle cells in vitro: a potential role for interleukin-17 and airway smooth muscle cells in bronchiolitis obliterans syndrome*. J Heart Lung Transplant, 2003. **22**(11): p. 1280-3.
103. Hoshino, H., et al., *Neutrophil recruitment by interleukin-17 into rat airways in vivo. Role of tachykinins*. Am J Respir Crit Care Med, 1999. **159**(5 Pt 1): p. 1423-8.
104. Laan, M., et al., *Neutrophil recruitment by human IL-17 via C-X-C chemokine release in the airways*. J Immunol, 1999. **162**(4): p. 2347-52.

105. Kawaguchi, M., et al., *IL-17F sequence variant (His161Arg) is associated with protection against asthma and antagonizes wild-type IL-17F activity*. J Allergy Clin Immunol, 2006. **117**(4): p. 795-801.
106. Kawaguchi, M., et al., *Induction of C-X-C chemokines, growth-related oncogene alpha expression, and epithelial cell-derived neutrophil-activating protein-78 by ML-1 (interleukin-17F) involves activation of Raf1-mitogen-activated protein kinase kinase-extracellular signal-regulated kinase 1/2 pathway*. J Pharmacol Exp Ther, 2003. **307**(3): p. 1213-20.
107. Kawaguchi, M., et al., *Induction of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor by a new cytokine, ML-1 (IL-17F), via Raf I-MEK-ERK pathway*. J Allergy Clin Immunol, 2004. **114**(2): p. 444-50.
108. Kawaguchi, M., L.F. Onuchic, and S.K. Huang, *Activation of extracellular signal-regulated kinase (ERK)1/2, but not p38 and c-Jun N-terminal kinase, is involved in signaling of a novel cytokine, ML-1*. J Biol Chem, 2002. **277**(18): p. 15229-32.
109. Ramsey, C.D., et al., *Polymorphisms in the interleukin 17F gene (IL17F) and asthma*. Genes Immun, 2005. **6**(3): p. 236-41.
110. Seiderer, J., et al., *Role of the novel Th17 cytokine IL-17F in inflammatory bowel disease (IBD): upregulated colonic IL-17F expression in active Crohn's disease and analysis of the IL17F p.His161Arg polymorphism in IBD*. Inflamm Bowel Dis, 2008. **14**(4): p. 437-45.



## ÖZGEÇMİŞ

Özlem AKDENİZ 05.06.1979 tarihinde Isparta'da doğdu. İlkokul eğitimini Yahya Kemal Beyatlı İlkokulu'nda; ortaokul eğitimini Karesi Ortaokulu ve lise eğitimini Balıkesir Lisesi'nde tamamladı. 1999 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden mezun olarak lisans eğitimini tamamladı. 2006-2007 eğitim öğretim yılının bahar döneminde Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalına bağlı İmmünoloji Yüksek Lisans Proramına başladı. Halen Akdeniz Üniversitesi Merkez Araştırma Laboratuvarında sağlık teknisyeni kadrosunda çalışmaktadır. Yabancı dili İngilizcedir.

# EKLER

**IL-17F geninde 161HIS-ARG A-G; 553. A amino asiti**  
GeneBank acc. No: NM\_052872

301 gctccacctc cccctggaat tacactgtca cttgggaccc caaccgtac ccctcggaag  
361 ttgtacaggc ccagttagg aactgggct gcatcaatgc tcaaggaaag gaagacatct  
421 ccatgaattc cgttccatc cagcaagaga ccctggctgt cggaggaag caccaaggct  
481 gctctgtttc tttccagttg gagaagggtgc tggtgactgt tggctgcacc **tgctcacc**  
541 **ctgtcatcca cc**atgtgcag taagaggtgc atatccactc agctgaagaa gctgtagaaa  
601 tgccactcct taccagtgct tctgcaacaa gtct**gtctg accccaatt ccctccactt**  
661 cacaggactc ttaataagac ctgcacggat ggaaacagaa aatattcaca atgtatgtgt

**IL-17F geninde 126GLU-GLY A-G; 448. A amino asiti**

GeneBank acc. No: NM\_052872

301 gctccacctc ccctggaat tacactgtca cttgggaccc caaccggtac ccctcggaag  
361 ttgtacaggc ccagttagg aactgggct gcatcaatgc tcaaggaaag gaagacatct  
421 ccatgaattc cgttcccatc cagcaagaga ccctggtcgt ccggaggaag  
caccaaggct  
481 gctctgttc ttccagttg gagaaggtgc tggtgactgt tggctgcacc tgcgtcacc  
541 ctgcatcca ccatgtgcag taagaggtgc atatccactc agctgaagaa gctgtagaaa  
601 tgccactcct taccagtgct tctgcaacaa gtcctgtctg accccaatt ccctccactt  
661 cacaggactc ttaataagac ctgcacggat ggaaacagaa aatattcaca atgtatgt

**IL-17F geninde 155VAL-ILE G-A; 534. G amino asiti**

GeneBank acc. No:NM\_052872

301 gctccacctc ccctggaat tacactgtca ctgggaccc caaccggtac ccctcggaag  
361 ttgtacaggc ccagttagg aactgggct gcatcaatgc tcaaggaaag gaagacatct  
421 ccatgaattc cgttccatc cagcaagaga ccctggcgt cggaggaag caccaaggct  
481 gctctgttc tttccagtg gagaaggcgc tggtgactgt tggctgcacc tgcgtcacc  
541 ctgtcatcca ccatgtgcag taagaggcgc atatccactc agctgaagaa gctgtagaaa  
601 tgccactcct taccagcgc tctgcaaca gtcctgtctg accccaatt ccctccactt  
661 cacaggactc ttaataagac ctgcacggat ggaaacagaa aatattcaca atgtatgt

**gAPDH**

GeneBank acc. No:NM\_002046

721 atccctgcct ctactggcgc tgccaaggct gtgggcaagg tcatccctga  
gctgaacggg

781 aagctcactg gcatggcctt ccgtgtcccc actgccaacg tgtcagtggg ggacctgacc  
841 tgccgtctag aaaacctgc caaatatgat gacatcaaga aggtggtgaa  
gcaggcgtcg

901 gagggcccc tcaagggcat cctgggctac actgagcacc aggtggtctc ctctgacttc  
961 aacagcgaca cccactcctc caccttgac gctggggctg gcattgcctt  
caacgaccac

1021 tttgtcaagc tcatttctg gtagacaac gaatttggt acagcaacag ggtggtggac  
1081 ctcatggccc acatggcctc caaggagtaa gaccctgga ccaccagccc  
cagcaagagc

1141 acaagaggaa gagagagacc ctactgctg gggagtcctt gccacactca  
gtccccacc