



AKUT BRONŞİAL ASTMALI HASTALARIN TAKİBİNDE SERUM EOZİNOFİLİK KATYONİK PROTEİN SEVİYELERİ

SERUM EOSINOPHIL CATIONIC PROTEIN LEVELS IN MONITORING OF THE PATIENTS WITH ACUTE BRONCHIAL ASTHMA

Güray SAYDAM¹ Ali KOKULUDAĞ²

¹Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Bornova, İzmir

²Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı, İmmünoloji Bilim Dalı, Bornova, İzmir

Anahtar Sözcükler: akut astma atağı, eozinofilik katyonik protein

Key Words: acute asthma attack, eosinophilic cationic protein

ÖZET

Etyolojisi ne olursa olsun, astma patogenezinde önemli rol oynayan eozinofillerden açığa çıkan eozinofil katyonik proteinin hava yolu inflamasyonu ve epitel hasarında etkin rolü olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada, akut astma atağı ile acil servise başvuran hastalarda atak sırasında ve ataktan 1 hafta sonrasında kadar olan sürede eozinofil katyonik protein seviyelerindeki değişimi ve bu değişimin klinik bulgular ile olan uyumunu araştırılmıştır. Çalışmaya, akut astma atağı ile acil servise başvuran 32 hasta ve kontrol grubu olarak 32 sağlıklı gönüllü dahil edilmiştir. Hastalarda başvuru anında, atağın 24. saatinde ve 1. haftasında serum eozinofil katyonik protein seviyeleri ölçüldü. Hasta grubunda başvuru anında ölçülen serum eozinofil katyonik protein seviyeleri 37.7 ± 7.5 ug/L bulunurken, kontrol grubunda 7.6 ± 0.52 ng/L olarak saptandı ve aradaki fark anlamlıydı ($p < 0.05$). Ataktan 24 saat sonra, hastalar inhale steroid kullanırken yapılan ölçümde eozinofil katyonik protein seviyesi 12.6 ± 1.0 jig/L ve bir hafta sonra yapılan ölçümde ise 20.2 ± 5 j.ig/L olarak bulundu ve kontrol grubu ile arasındaki fark anlamlıydı ($p < 0.05$). Atak sonrası eozinofil katyonik protein seviyeleri ile klinik düzelmeyi saptayan semptom skoru arasında, başvuru anında ve 24. saatte korelasyon saptandı.

Bu çalışmada serum eozinofil katyonik protein seviyelerinin, akut astma şiddetini ve tedaviye yanıtı değerlendirmede klinikle korele ve anlamlı bir kriter olabileceği sonucuna varılmıştır.

SUMMARY

It has been shown that eosinophilic cationic protein derived from eosinophils, has an important role in the pathogenesis of airway inflammation and epithelial damage in any type of asthma. The aim of this study was to investigate both the serum levels of eosinophilic cationic protein and possible relationship between serum eosinophilic cationic protein levels and clinical activity in patients with acute asthma attack. Eosinophilic cationic protein levels were measured in sera of 32 patients and of 32 age and gender matched healthy volunteers during acute attack, 24 hours and 7 days after attack. Serum eosinophilic cationic protein levels in the patients with asthma during attack were significantly higher than those of the controls (37.7 ± 7.5 f.ig/L vs 7.6 ± 0.52 /ig/L, respectively, $p < 0.05$). After 24 hours,

Yazışma adresi: Güray Saydam, Ege Üniversitesi, Tıp Fakültesi

İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Bornova, İzmir

Makalenin geliş tarihi: 22. 08. 2000 ; kabul tarihi: 21. 11. 2000

while the patients taking inhaled steroids, the mean eosinophilic cationic protein levels of patients were 12.6 ± 1.0 j-ig/L, and after 7 days, 20.2 ± 5 j.ig/L and still statistically different from mean eosinophilic cationic protein level of the control group ($p < 0.05$). There was a positive correlation between the eosinophilic cationic protein levels and symptom score of the patients during the acute attack and 24 hours after attack.

It is concluded that serum eosinophilic cationic protein levels might be used in the assessment of the treatment and monitoring of the patients with acute attack.

GİRİŞ

Bronşial astma, hava yollarının kronik inflamasyonu ile karakterizedir (1-3). Astmadaki inflamatuvar olaya bir çok hücreler ve onların ürünleri katılır (3). Bu hücreler arasında eozinofiller esas hücrelerdir (4,5). Biopsi çalışmaları, astmada, aktif durumdaki eozinofillerin varlığını ve bu hücrelerin inhale steroidlerden sonra kaybolduğunu göstermiştir (6). Eozinofiller uyarıldıkları zaman, granüllerlerinden bazı proteinler salgılamaktadır. Bunlardan biri olan eozinofil katyonik protein (ECP), 133 aminoasitten oluşur ve 156 kDa ağırlığındadır. Eozinofiller dışında ihmal edilebilir düzeylerde yapıldığından eozinofilik inflamasyonun spesifik göstergesi olarak kabul edilir. Parazitlere, izole miyokard hücrelerine ve bronş epiteline toksiktir. Depolanan ve aktivasyonla sekrete edilen ECP antijenik olarak farklı yapıdadır. Bu sayede aktif eozinofiller, istirahatteki eozinofillerden ayrılabilir (7,8). Solunum yolu epiteline hasar oluşturabilme özelliğine sahip olması astma açısından önemlidir (9,10).

Astmada, klinik aktivitenin belirlenmesinde ve tedavinin takibinde semptom skoru, FEV1 ölçümleri gibi klinik parametreler kullanılmaktadır (11). Ancak bu parametreler genellikle yeterli değildir ve özellikle astmanın temelinde varolan inflamasyonun derecesini göstermede hassas değildirler, inflamasyonun derecesini bilmek, hastanın tedavisinde antiinflamatuvar ilaçların etkili biçimde kullanılmasını sağlayacağından, hasta açısından çok önemlidir. ECP, astmanın temelindeki eozinofilik inflamasyonun bir göstergesi olarak, bugün yaygın olarak kabul edilmiştir (12). Bronkoalveolar lavaj (BAL) sıvısındaki eozinofil sayısı ile ECP seviyeleri arasında ve astma şiddeti arasında paralellik mevcuttur (13-15). Ayrıca serum ile BAL sıvı ECP seviyeleri arasında korelasyon olduğu da saptanmıştır (11,16,17). Ancak, ECP, astmada, inflamasyonun tek göstergesi olarak kabul edilmemeli ve diğer labortauvar ve klinik bulgularla mutlaka desteklenmelidir.

ECP'nin, ticari olarak mevcut kitler ile serum, balgam ve BAL sıvısı gibi vücut sıvılarında ölçülebilir olması, pratikte kullanım sahasının genişlemesini sağlamıştır. Bu durumda, özellikle tedavi alan ve klinik ile laboratuvar bulgularının birbirine uymadığı hastalarda, inflamasyonun derecesini ve tedaviye yanıtı değerlendirmede ECP, önemli bir kriter olma yolundadır. Ancak halen, pek çok klinikte rutin bir tetkik haline gelmemiştir.

Bu çalışmada, akut astma atağı ile acil servise başvuran hastalarda atak sırasında ve ataktan 1 hafta sonrasında kadar olan sürede ECP seviyelerindeki değişimin ve ECP seviyeleri ile klinik bulgular arasında korelasyon olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya, acil servise akut astma atağı ile başvuran 32 hasta ve kontrol grubu olarak benzer yaş ve cinsiyet özelliklerine sahip olan 32 sağlıklı gönüllü dahil edilmiştir. Hastaların 27'si kadın, 5'i erkek olup, yaşları 19-52 (ortalama 32) arasındadır. Astma hastalarının tanıları, American Thoracic Society'nin kriterlerine uyuyordu (16). Akut astma atağı; dispne ve duyulabilir ekspiratuvar wheezing ve FEV1'de atak dışındaki dönemlerde ölçülen değerlere göre %20 ve daha fazla azalma olarak tanımlandı.

Akut atak ile acil servise başvuran hastaların 15'i inhale steroid kullanıyordu. Bir kısmı teofilin ve/veya beta-2 agonist inhaler kullanıyordu. Hastalar standart olarak intravenöz 40 mg metilprednisolone ve 300 mg aminophilline ile tedavi edildi. Bu tedavi ile akut atak semptomları kontrol altına alınamayan ve/veya genel durumunda bozulma olan hastalar çalışmadan çıkarıldı. İdame tedavisi olarak inhale steroid ve beta-2 agonist ajanlar kullanıldı. Bütün hastalarda başvuru esnasında, 24. saatte ve 7. günde serum örnekleri alındı. Altı hastada, anamnez ve inhalan allerjenlere spesifik IgE'ler için tarama testi olan Phadiatop (Pharmacia & Upjohn Diagnostics AB, Upsala, Sweden) testi ile allerjik astma tanısı konuldu. Daha önce literatürde tanımlananlara uygun olarak bir semptom skalası oluşturuldu ve serum örneklerinin elde olduğu zamanlarda, semptom skalasına göre hastalar da değerlendirildi ve skorları elde edildi.

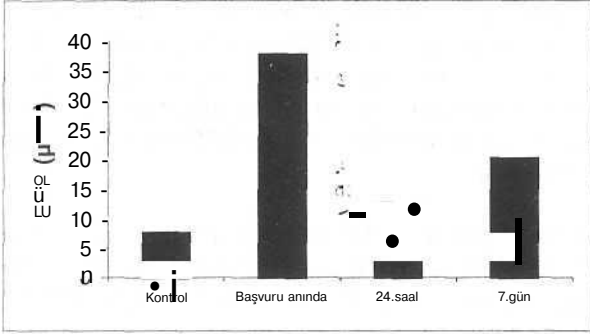
Serum ECP seviyelerinin ölçümü için serum örnekleri önerilen standardize yöntemle alındı (17). SST (Becton-Dickinson) tüplere alınan kan pıhtılaşma için oda ısısında 120 dakika bekletildi. Oda ısısında 1000xg 10 dakika santrifüj yapıldı. Serum örnekleri başka tüpe alındı ve çalışma yapıncaya kadar -20°C de bekletildi. ECP'nin serum seviyeleri fluoroimmunoassay yöntemi ile ölçüldü.

(Unicap ECP, Pharmacia Diagnostics AB, Upsala, Sweden).

istatistiksel değerlendirme GraphPad 2.0 programında , Mann Whitney U ve ANOVA tesleri kullanılarak yapıldı

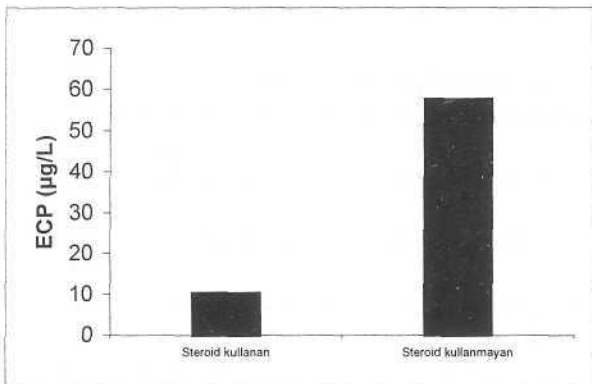
BULGULAR

Hastaneye akut atakla başvuran 32 hastanın, atak anında saptanan serum ECP düzeyleri ile kontrol grubu serum ECP düzeyleri arasında anlamlı fark saptandı (sırasıyla 37.8 ± 7.5 $\mu\text{g/L}$ ve 7.6 ± 0.52 ng/L $p < 0.05$, Şekil 1).



Şekil 1. Hasta ve kontrol gruplarının ortalama serum ECP düzeyleri

Başvuru esnasında inhale steroid kullanan hastalarda serum ECP düzeyleri, kullanmayan hastalara göre belirgin düşüktü ve aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi (sırasıyla 10.3 ± 2.5 $\mu\text{g/L}$ ve 57.6 ± 11.6 $\mu\text{g/L}$, $p < 0.0001$, Şekil 2).



Şekil 2. Steroid kullanan ve kullanmayan hastaların, başvuru anında ölçülen serum ECP düzeyleri

Akut ataktan 24 saat sonra ölçülen ortalama serum ECP düzeyleri 12.6 ± 1.0 $\mu\text{g/L}$ olarak bulundu ve bu değer kontrol grubuna oranla anlamlı şekilde yüksekti ($p < 0.05$). Akut atak sırasındaki ortalama serum ECP düzeyinden ise anlamlı olarak düşüktü ($p < 0.05$). Yedinci günde, serum ECP düzeylerinde ılımlı bir artış saptandı (ortalama ECP değeri 20.2 ± 5 $\mu\text{g/L}$). Ancak halen akut atak sıra-

sındaki değerden anlamlı olarak düşüktü ($p < 0.05$). Son iki ECP düzeyleri arasındaki fark anlamlı değildi (Şekil 1).

Allerjik astmalı olduğu saptanan olgularda, başvuru esnasında elde olunan ECP değerleri ile allerjik astması olmayan hastalardan elde olunan değerler arasında fark yoktu (sırasıyla 37 ± 2.4 ve 37.2 ± 2.1 $\mu\text{g/L}$, $p > 0.05$).

Hastaların semptom skorları ile, serum ECP değerleri arasında, başlangıçta ve 24.saatte anlamlı korelasyon saptanırken, 7. günde korelasyon olmadığı belirlendi ($p < 0.05$ de, sırasıyla , $r: 0.461$, $r: 0.723$, $r: 0.091$).

TARTIŞMA

Astma, ataklar ile seyretmesine karşın, hava yollarının kronik inflamasyonu ile karakterizedir. Bu nedenle, pek çok merkezde, astmanın şiddetini göstermek ve hava yolu inflamasyonunun derecesini belirlemek amacı ile noninvazif yöntemler geliştirilmeye çalışılmaktadır. Bu amaçla kullanılan kriterlerin başında, günlük semptomların subjektif olarak değerlendirilmesi, (32 agonist inhaler ihtiyacı, pik ekspiratuvar akım (PEF) değerleri gelmektedir (18). Objektif pulmoner fonksiyon ölçütleri olan hava yolu yanıtıllığı ve spirometrik ölçümler de kullanılmaktadır. Ancak bu yöntemler çoğu zaman hava yolundaki inflamatuvar süreci tam olarak yansıtmadığı için, genellikle, doğru tedavinin tam olarak seçilmesine yardımcı olamamaktadır. Astmadaki inflamasyonun eozinofillerle karakterize olması, aktif eozinofillerden salınan ECP'nin inflamasyonun bir göstergesi olarak kullanılmasına neden olmuştur.

Mevsimsel polen allerjisi ve astması olan hastalarda doğal yoldan allerjen ile karşılaşmadan sonra, astma kliniği ve solunum fonksiyon testlerindeki değişim ile ECP seviyelerindeki değişim arasında tam bir korelasyon olduğu gösterilmiştir (19). Yine, başka çalışmalarda, ECP'nin özellikle geç astmatik yanıtta belirgin artış gösterdiği, bu hastalarda ECP ile PEF değerleri arasındaki korelasyonun, ECP ile eozinofil sayısı arasındaki korelasyondan daha fazla olduğu ve, tedavi ile PEF değeri ve eozinofil sayısı arasında bir korelasyon kalmazken, PEF ile ECP arasındaki korelasyonun devam ettiği saptanmıştır (20). Eozinofil sayısı ile değil ama aktivite göstergesi olan monoklonal EG2 pozitif eozinofiller ile ECP seviyeleri arasında korelasyon olduğu da gösterilmiştir (11,13,21).

Bu çalışmada, çalışma süresi boyunca hastalardan alınan her 3 kan örneklerinde serum ECP konsantrasyonları kontrol grubunun değerlerinden yüksek bulunmuştur. Bu bulgu, ECP'nin astmadaki eozinofillik inflamasyonun bir göstergesi olduğu bilgisi ile uyumludur, ilk başvuru anındaki ECP değerlerinin 1. ve 7. güne göre istatistiksel

açıdan anlamlı bir şekilde yüksek olması, akut astma atağı sırasında daha şiddetli bir inflamasyonun olduğunu göstermektedir. Hastaların semptomlarının gerilediği 7. günde bile, kontrollere oranla anlamlı derecede yüksek ECP düzeylerinin saptanmış olması, hava yollarında klinik semptomu neden olmayan eozinofilik inflamasyonun devam ettiğini ve ECP'nin hava yolu inflamasyonunun iyi bir göstergesi olabileceğini ortaya koymaktadır.

Hastaların 24. saatte düşen serum ECP düzeylerinde idame tedavisi olarak inhale steroid kullanılmasına karşın, 7. günde hafif bir artış olduğu gözlenmiştir. Serum ECP düzeylerinin 24. saatteki düşüşten sonra tekrar yükselme göstermesi, acil serviste yapılan intravenöz kortikosteroidlerin inhale steroidlere göre serum ECP düzeylerine daha fazla etkili olduğunu düşündürmüştür. Daha önce başka çalışmalarda da ortaya konmuş olan, serum inflamasyon göstergeleri üzerine oral/parenteral steroid tedavisinin inhale steroid tedavisinden daha etkili olduğu görüşü bu bulguyu desteklemektedir (22,23).

Steroidlerin, astmadaki inflamatuvar olayı baskılamadaki başarıları net bir şekilde bilinmektedir. Steroidler, hava yolunda, IL-5 ve GM-CSF gibi sitokinlerin yapımını azalt-

makta ve dolayısıyla, total ve aktif eozinofil sayısında ve ECP seviyelerinde belirgin bir düşmeye neden olmaktadır (22). Bazı çalışmalarda, steroidlerin, eozinofil sayısında çok anlamlı düşümlere neden olmadan ECP seviyelerini düşürebildiği gösterilmiştir. Topikal steroidlerin de, diğer formlar kadar olmasa da, geç astmatik yanıtı ve ECP de beklenen artışı engellediği bildirilmiştir (24). Steroidlerin etkisi bu kadar net ve kesin bir şekilde ortaya konduğuna göre, acil servise akut astma atağı ile başvuran ve steroid başlanan olguların, en az 3-10 gün kadar daha oral steroid tedavisine devam etmeleri gerektiği önerilebilir.

Başvuru sırasında ve 24. saatte serum ECP seviyeleri ile semptom skoru arasında korelasyon olmasına karşın, 7. günde korelasyon saptanmamıştır. Bu, astmaya ait klinik bulguların gerilemesine karşın inflamasyonun devam etmesine bağlanmıştır. Bu bulgu, astmada antiinflamatuar tedavinin düzenlenmesinde, ECP'nin değerini ortaya koymaktadır.

Bu çalışmada saptanan bulgular ile akut astma atağı sırasında serum ECP seviyelerinin klinik ile paralel olarak arttığı ve hastanın takibinde değerli olduğu sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Mc Fadden ER Jr, Gilbert Ilfen A. Asthma New Engl J Med .1992 ; 327:1928-35.
2. American Thoracic Society Committee on Diagnostic Standarts Definitions and Classification of Chronic Bronchitis, Asthma and Pulmonary Emphysem. Am Rev Resp Dis 1962; 85:762.
3. Adelroth E, Rosenhall L, Johanson S, et al. Inflammatory cells and eosinophilic activity in asthma investigated by bronchoalveolar lavage : the effects of antiasthmatic treatment with budesonide or terbutaline . Am Rev Respir Dis 1990;142:91-99
4. Türkteş H. Astma Patogenezi. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi 1997;17(4):228-231.
5. Simson L,Foster PS. Chemokine and cytokine cooperativity : eosinophils in the asthmatic response. Immunol Ceil Biol 2000;78(4):415-22.
6. Holt PG. Regulation of antigen presenting celi function(s) in lung and airway tissues. Eur Respir J 1993; 6:120-29.
7. Tai PC, Spry CJF, Peterson C et al. Monoclonal antibodies distinguish between storage and secreted forms of eosinophil cationic protein. Nature 1984;309:182-184.
8. Wardlaw AJ. Eosinophils in the 1900's:new perspectives on their role in the health and disease. Postgraduate Med J 1994;70:536-552.
9. Venge P, Henriksen J, Dahi R. Eosinophils in exercise induced asthma. J Allergy Clin Immunol 1991;88:699-701
10. Özdemir E. Astma Etyopatogenezi. Akademi 1996;2(2):85-103.
11. Chan-Yeung M, Chang JH, Menfreda J et al. Chenges in Peak Flow , symptom score , and the use of medications during acute exacerbations of asthma. Am J Respir Crit Çare 1996; 154; 889-893.
12. Ferguson AC, Vaughan R, Brown H et al. Evaluation of serum eosinophilic cationic protein as a marker of disease activity in chronic asthma . J Allergy Clin Immunol 1995; 95(1)23-28.
13. Durham SR, Loegering A, Dunnette S et al. Blood eosinophils and eosinophil-derived proteins in allergic asthma. J Allergy Clin Immunol 1989;84:931-6.
14. Vatrella A, Ponticello A, Parrella R et al. Seum eosinophilic cationik protein (ECP) as a marker of disease activity and treatment efficacy in seasonal asthma. Allergy 1996;51:547-555.
15. Sont JK, van Krieken JHJM, Evertse CE et al. Relationship between the inflammatory infiltrate in the bronchial biopsy specimens and clinical severity of asthma in patients treated with inhaled steroids. Thorax 1996; 51:496-502.
16. American Thoracic Society. Standards for the diagnosis and çare of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and asthma. Am Rev Respir Dis 1987; 136:225.
17. Venge P. Serum measurements of eosinophil cationic protein (ECP) in bronchial asthma. Clin Exp Allergy 1993; 23 (Suppl 2):3

18. Niggeman B, Ertel M, Lanner A, et al. Relevance of serum ECP measurements for monitoring acute asthma in children. *J Asthma* 1996;33 (5):327-30
19. Ferguson AC, Vaughan R, Brown H et al. Evaluation of serum eosinophilic cationic protein as a marker of disease activity in chronic asthma. *J Aller Clin Immunol* 1995; 95(1)23-28
20. Frigas E, Loegering DA, Solley GO et al. Elevated levels of the eosinophil granule major basic protein in the sputum of patients with bronchial asthma. *Mayo Clin Proc* 1981;56:345-53
21. Dahi R, Venge P, Olsson I. Variations of blood eosinophils and eosinophil cationic protein in serum in patients with bronchial asthma. *Allergy* 1978;33:211-5
22. Wewer AMJ, Wewer-Hess J, Hermans J. The use of serum eosinophil cationic protein (ECP) in the management of steroid therapy in chronic asthma. *Clin Exp Allergy* 1997;27:519-529
23. Marouf R, Khadadh ME, Onadoko BO et al. The effect of corticosteroid therapy on blood eosinophils and eosinophilic cationic protein in patients with acute and chronic asthma. *J Asthma* 1999 ;36(7):555-64
24. Meijer RJ, Kerstjens HA, Arenda LR, et al. Effects of inhaled fluticasone and oral prednisolone on clinical and inflammatory parameters in patients with asthma. *Thorax* 1999;54(10) :894-9

* Uluslararası Katılımlı Astma ve Allerjik Hastalıklar Kongresi ve Mezuniyet Sonrası Kursu'nda (8-10 Eylül 1999, Samsun) poster olarak sunulmuştur.