

Yüksek Eozinofilik Katyonik Protein (ECP) Düzeyleri ile Allerji Parametreleri İlişkisi

E. ATAHAN*, B. MÜSELLİM*, K. GÜVEN*, N. YILMAZ*, B. GEMİCİOĞLU*

* İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, İSTANBUL

Bu çalışmada, allerjik (grup 1; 107 olgu) ve nonallerjik (grup 2; 38 olgu), stabil astım olguları ve sağlıklı erişkinlerde (grup 3; 67 olgu) eozinofilik katyonik protein (ECP) düzeyi yüksekliğinin, allerji parametreleri ile ilişkisi araştırılmıştır. Grup 1'in "prick" testlerinde %86.2 akar, %34.9 ev hayvanı, %33.9 polen ve %11.9 mantar allerjisi saptandı. Grup 1'in ECP düzeyi 51 ± 50 µg/mL, total IgE (tIgE) 316 ± 394 IU, periferik eozinofil (PE) 5 ± 3 ve nazal eozinofil (NE) 11 ± 20 bulunmuştur. Grup 2'nin ECP düzeyi 29 ± 45 µg/mL, tIgE 125 ± 199 IU, PE 3 ± 2 , NE 8 ± 10 'dur. Grup 3'te ise ECP düzeyi 17 ± 12 µg/mL, tIgE 67 ± 87 IU, PE 2 ± 2 saptanmıştır. Her üç grubun verileri karşılaştırıldığında hem grup 1 ve 2 arasında hem de grup 1 ile 3 arasında ECP ve tIgE açısından anlamlı fark mevcuttu ($p < 0.001$). PE açısından grup 1 ile 3 ($p < 0.001$) ve grup 2 ile 3 ($p = 0.001$) anlamlı olarak farklı bulundu, grup 1 ve 2

arasında fark saptanmadı ($p = 0.072$). NE açısından grup 1 ve 2 arasında fark saptanmadı ($p > 0.05$). ECP ve tIgE düzeyi açısından grup 2 ve 3 arasında fark yoktu ($p > 0.05$). ECP; grup 1'de %81.3, grup 2'de %44.7, grup 3'te ise %49.3 olguda sağlıklı grup median değerinden yüksek bulundu. ECP ile tIgE arasındaki korelasyona bakıldığında hiçbir grupta ilişki saptanmadı ($p > 0.05$). Grup 1'de ECP ile akarlara spesifik IgE'ler için de korelasyon bulunamadı ($p = 0.08$). Grup 1, akar allerjisi olanlarda, ECP yüksekliği %85.1 olup, bunun dışında allerjisi olanlarda %53.8 olarak bulundu. ECP yüksekliği ile akar allerjisi pozitifliği arasında ki-kare testi ile ileri derecede ilişki saptandı ($p = 0.02$). ECP yüksekliğini oluşturan birçok parametreden birinin de akar allerjisi ile ilgili olabileceği düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Astım, Allerji, ECP.

Correlation of High Eosinophilic Cathionic Protein (ECP) Levels with Allergy Parameters

In this study we evaluated the relation between elevated eosinophilic cathionic protein (ECP) levels and allergy parameters in allergic and nonallergic, stable asthma patients. Distribution of subjects, group 1; 107 stable allergic asthma, group 2; 38 nonallergic asthma and group 3; 67 healthy subjects. Prick tests in group

1 showed 86.2% mite, 34.9% domestic animals, 33.9% pollen and 11.9% mold allergy. Group 1 ECP level was 51 ± 50 µg/mL, tIgE 316 ± 394 IU, peripheric eosinophil (PE) $5 \pm 3\%$ and nasal eosinophil (NE) $11 \pm 20\%$. Group 2 ECP 29 ± 45 µg/mL, tIgE 125 ± 199 IU, PE $3 \pm 2\%$, NE $8 \pm 10\%$. Group 3 ECP 17 ± 12 µg/mL,

Yazışma Adresi: Dr. B. GEMİCİOĞLU

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, İSTANBUL
e-posta: bgemici@gemdata.com.tr

tIgE 67 ± 87 IU, PE $2 \pm 2\%$. When data of all three groups were compared, there was statistically meaningful difference between groups 1 and 2 as well as groups 1 and 3 with respect to ECP and tIgE ($p < 0.001$). Meaningful difference with PE was found between groups 1 and 3 ($p < 0.001$) and groups 2 and 3 ($p = 0.001$). No meaningful difference was seen between groups 1 and 2. For NE no difference was observed between groups 1 and 2 ($p > 0.05$). ECP level was above the median level of healthy group for group 1 (81.3%), group 2 (44.7%), and group 3 (49.3%). The

re was no correlation between ECP and tIgE levels in any group ($p > 0.05$). There was no correlation between ECP levels and mite specific IgE in group I. Eighty five point one percent of subjects with mite allergy and 53.8% of other allergies in group 1 had elevated ECP levels where elevated ECP levels and positive mite allergy were highly related according to Chi-Square tests ($p = 0.02$). ECP can be elevated by a number of parameters, according to our results one of them can be mite allergy.

Key Words: Asthma, Allergy, ECP.

Eozinofil hücreleri, astımın patogeneğinde rol alan en önemli hücrelerdir^[1,2]. Eozinofillerin, allerjik reaksiyonlarda salgıladığı birçok enzim ve proteinden biri olan eozinofilik katyonik protein (ECP), astımlı olgularda da yüksek düzeylerde saptanmıştır^[1,3]. Yine bazı olgularda ECP seviyesinin stabilite sağlanmasına ve tedavilere rağmen yüksek kalabildiği gözlenmiştir^[4]. Bu durumun sürekli bir allerjenik provokasyondan olabileceği varsayımı ile yüksek ECP seviyelerinin, kan ve nazal lavaj eozinofili, total IgE (tIgE), akarlara spesifik IgE (sIgE), "prick" deri testleri arasındaki ilişkileri allerjik ve allerjik olmayan astımlı olgular ve sağlıklı kontrollerde araştırılmıştır. Özellikle akarlara spesifik çalışılmasının nedeni İstanbul'da en yoğun allerjinin akarlar tarafından oluşturulmasıdır.

GEREÇ ve YÖNTEM

Olgular

Çalışmamızda Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı Astım Polikliniği'nde 1 Haziran 2002-31 Aralık 2002 tarihleri arasında "Global Initiative for Asthma (GINA)" 2002 tanı ve tedavi rehberine göre astım tanısı almış, rutin kontrol için başvuran stabil dönemdeki 145 hasta incelemeye alınmıştır^[5]. Astım hastalarından, en az bir allerjenle deri testi pozitifliği saptananlar allerjik (grup 1), deri testi negatif bulunanlar nonallerjik (grup 2) olarak ikiye ayrılmıştır. Ayrıca, rutin polikliniğe başvuran allerjisi bulunmayan sağlıklı hasta yakını erişkinlerden kontrol grubu (grup 3) oluşturulmuştur.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri;

1. Hafif veya orta persistan astımlı olmak,
2. Düşük doz inhale steroid ve lüzum halinde kısa etkili inhale betamimetik ve/veya inha-

le steroide ilave uzun etkili beta-agonist kullanıyor olmak,

3. Son bir aydır H₁ reseptör blokleri, nazal steroid, antihistaminik, lökotrien reseptör antagonisti kullanmıyor olmak,

4. Sigara içmemiş olmak,

5. Ek kronik hastalığı olmamak,

6. En az altı haftadır stabil dönemde olmak.

Olguların demografik dağılımı Tablo 1'de gösterilmiştir.

Hasta grubuyla kontrol grubu yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır ($p > 0.05$).

Gereçler

Kan eozinofilisi için vacutaner yöntemi ile EDTA'lı tüpe alınan kan 10 dakika ile sekiz saat içerisinde Beckman-Counter cihazında lazer formülasyonu yöntemi ile çalışılmıştır.

ECP ölçümü için 2-5 cc venöz kan alınıp santrifüj tüpüne konulmuş, tüp üç-beş kere elle çevrildikten sonra 60-120 dakika oda ısısında (20-24°C) bekletilmiştir. Sonra 10 dakika 2000 devirde santrifüj edilip serumu ayrılmıştır. Oda ısısında 24 saat, buzdolabında beş gün veya -20°C'de daha uzun bekletilen örnekler Pharmacia Unicap 100 cihazında floroimmünassay yöntemi ile çalışılarak ölçüm yapılmıştır.

Tablo 1. Olguların demografik parametreleri.

	Grup 1 (n= 107)	Grup 2 (n= 38)	Grup 3 (n= 67)
Yaş (ortalama \pm SS)	29 \pm 12	39 \pm 15	36 \pm 9
Cins (erkek/kadın)	35/72	9/29	32/35

Laboratuvar referans değerleri 0-11.7 ± 4.3 µg/mL'dir. Yine bütün olgularda Pharmacia Unicap 100 cihazı kullanılarak floreoimmünasay yöntemi ile serumda tIgE ve sIgE ölçümü yapılmıştır. tIgE için 180 µg/mL'den yüksek değerler pozitif kabul edilmiştir. sIgE yalnızca D. farinea ve D. pteronissinus'a karşı yapılmış olup, ≥ 0.7 kU/L konsantrasyonu (2+ üstü değerler) kabul edilmiştir. "Prick" allerji testi (ALK-Abello Danimarka) olgulara ön bilek ile dirsek çukuru arasında voler yüze 32 farklı allerjen ekstresi ile soluprick set kullanılarak uygulanmıştır.

Nazal lavaj; hasta sırt üstü yatırılıp, baş boyun hizasından kırılarak burun deliğinden inferior turbinata gelecek şekilde yaklaşık 5 mL serum fizyolojik verilmiştir, bu sırada sıvının geri akmasının önlenmesi için burnunu tıkaması istenip, verilen sıvının alınabildiği kadar geri alınması sağlanmıştır.

Materyal bir santrifüj tüpünde 500 devirde 10 dakika santrifüj edilip, süpernatant ayrıldıktan sonra hücresel materyal lama yayılmıştır. Eozinofillerle mast hücreleri için spesifik bir boyama olan May-Grunwald-Giemsa ile boyanmıştır. Bu çalışmada özellikle eozinofili yönünden değerlendirme yapılmıştır.

Yöntem

Yakınmasız olarak astım poliklinik kontrolüne başvuran stabil astım olgularından ve gönüllü genel polikliniğe başvuran hasta yakınlarından anamnez ile çalışma kriterlerine uygunluğu sağlanmışsa, olur alınarak 3-5 cc venöz kan örneği istenmiş ve "prick" deri testleri yapılmıştır. Olguların rutin biyometrik parametreleri kaydedilerek kan sayımı ve formülleri, "prick" deri testleri ve serumda ECP, tIgE ve sIgE düzeyleri ve nazal lavaj sitolojileri çalışılmıştır.

Çalışmaya katılan her üç grubun sonuçları Mann-Whitney U testi, Kruskal Wallis ve ki-kare testleri kullanılarak karşılaştırılmıştır. Korelasyon ilişkileri Spearman ve Pearson testleri ile değerlendirilmiştir.

BULGULAR

Olgu gruplarının ECP, tIgE, periferik ve nazal eozinofili ortalamaları Tablo 2'de ve Şekil 1'de yer almaktadır.

Her üç grubun verileri karşılaştırıldığında hem grup 1 ile 2 arasında hem de grup 1 ile 3 arasında ECP ve tIgE açısından anlamlı fark

Tablo 2. Olgu gruplarının ECP, tIgE, periferik ve nazal eozinofili ortalama ± standart sapmaları.

	Grup 1 (n= 107)	Grup 2 (n= 38)	Grup 3 (n= 67)
ECP (µg/mL)	51 ± 50	29 ± 45	17 ± 12
tIgE (IU)	316 ± 394	125 ± 199	67 ± 87
PE (%)	5 ± 3	3 ± 2	2 ± 2
NE (%)	11 ± 20	8 ± 10	Bakılmadı

PE: Periferik eozinofili, NE: Nazal eozinofili, tIgE: Total IgE.

mevcuttu (p< 0.001). ECP ve tIgE düzeyi açısından grup 2 ve 3 arasında fark yoktu (p> 0.05).

Periferik eozinofili açısından grup 1 ile 3 (p< 0.001) ve grup 2 ile 3 (p= 0.001) anlamlı olarak farklı bulundu, grup 1 ve 2 arasında fark saptanmadı. Nazal eozinofili açısından grup 1 ve 2 arasında fark saptanmadı (p> 0.05). Grup 3'te olguların nazal lavajı kabul etmemeleri nedeniyle bakılmadı.

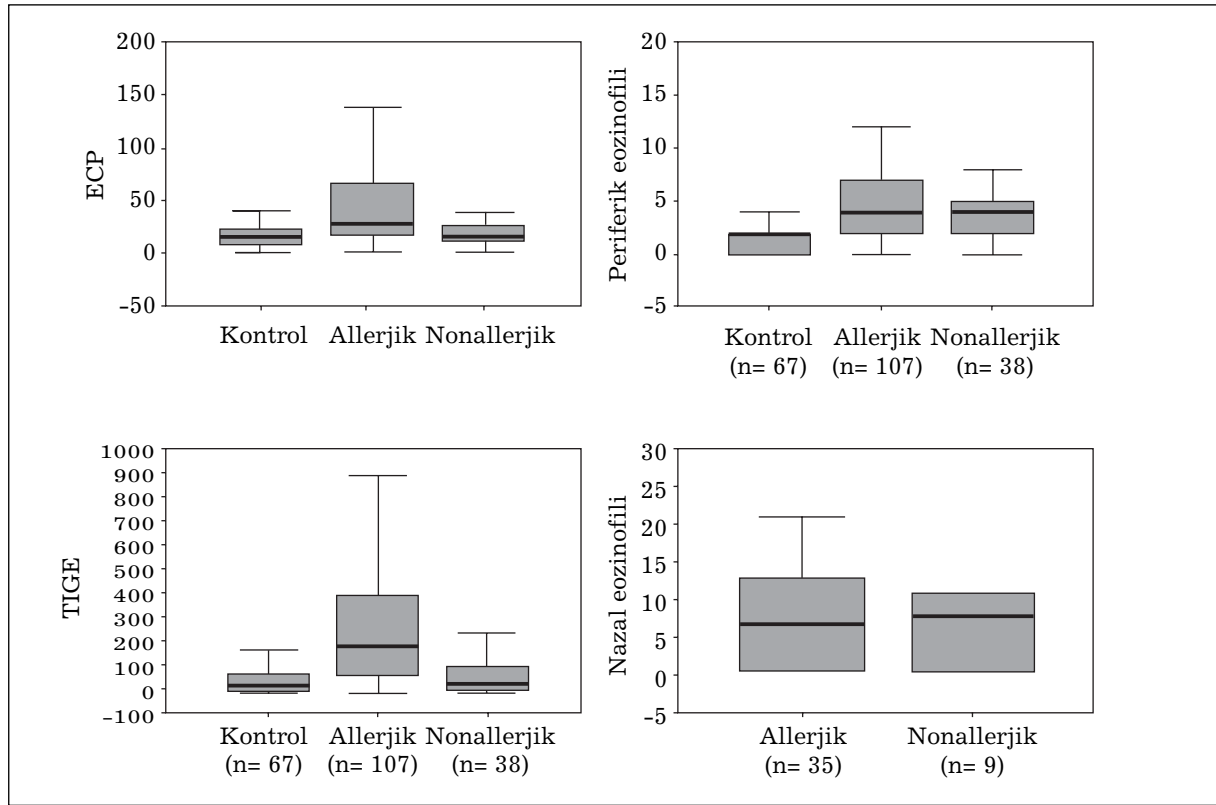
ECP; grup 1'de %81.3, grup 2'de %44.7, grup 3'te ise %49.3 olguda sağlıklı grup median değerinden yüksek bulundu. ECP ile tIgE arasındaki korelasyona bakıldığında hiçbir grupta korelasyon saptanmadı (p> 0.05). ECP ile nazal ve periferik eozinofili açısından astımlı gruplarda ileri derecede korelasyon gözlemlendi (p< 0.001). Grup 1'de "prick" testlerinde %86.2 akar, %34.9 ev hayvanı, %33.9 polen, %11.9 mantar ve %4.1 hamam böceği allerjisi saptandı (Tablo 3). Grup 2 ve 3'te sadece bir vakada akarlar karşı sIgE pozitifliği saptandı. Grup 1'de ECP ile akarlar karşı sIgE arasında korelasyon bulunamadı.

Grup 1'de, akar allerjisi olanlarda, ECP yüksekliği %85.1 olup, bunun dışında allerjisi olanlarda %53.8 olarak bulundu. ECP ile akar duyarlılığı arasında ki-kare testi ile anlamlı ilişki saptandı (p= 0.02).

ECP yüksekliği ile deri testinde akar allerjisi duyarlılığı arasındaki ilişki dikkat çekici olmakla birlikte, ECP yüksekliğini tamamen açıklamamaktadır. Bu nedenle farklı parametrelerin de etkilemesi ile ECP yüksekliği oluşturduğu fikrine varılmıştır. Buna karşılık, serum ECP düzeyi allerjik durumu göstermesi açısından, hem tIgE hem de periferik eozinofiliden daha güvenilir bir parametre olarak gözlenmiştir.

TARTIŞMA

Astım olgularında yapılan pek çok çalışmada astımlıların gerek periferik kan gerekse bronkoalveoler lavaj (BAL) veya indükte bal-



Şekil 1. Olgu gruplarının ECP, tİgE, periferik ve nazal eozinofili ortalama \pm standart sapmaları, median değerleri.

Tablo 3. Grup 1 "prick" test sonuçları.

Deri testi pozitifliğine yol açan allerjen	%
Akar	44
Polen	5
Ev hayvanı	3
Akar + polen	14
Akar + ev hayvanı	20
Akar + mantar	2
Polen + ev hayvanı	2
Polen + mantar	1
Ev hayvanı + mantar	1
Akar + polen + ev hayvanı	7
Akar + ev hayvanı + mantar	2
Polen + ev hayvanı + mantar	1
Diğer	5

gamlarında ECP düzeyleri artmış olarak saptanmıştır^[1-4,6-8].

Niimi ve arkadaşları serum ECP düzeyinin astımlılarda normallerden yüksek olduğunu ve bunun BAL ve doku eozinofilisi ile korele olduğunu göstermişlerdir^[6]. Louis ve arkadaşları

da astımlıların indüklenmiş balgam örneklerinde ECP düzeylerini normallere göre yüksek bulmuşlardır^[7]. Demir ve arkadaşları da tedavi altındaki stabil astımlı olguların %41'inde normalden yüksek ECP düzeyleri gözlemişlerdir^[8]. Bu çalışmada da ortalama değerler karşılaştırıldığında allerjik astım olgularında nonallerjik ve sağlıklı kontrollere göre periferik kan ECP düzeyinin anlamlı yüksek bulunduğu gözlemlendi. Yine ECP düzeyi yüksek olguların yüzdesi açısından bakıldığında da allerjik olguların %81.3, nonallerjik olguların %44.7, sağlıklıların ise %49.3'ünde sağlıklı grup median değerinden yüksek bulundu. Diğer çalışmalara paralel olarak ECP ile nazal ve periferik eozinofili açısından astımlı gruplarda anlamlı derecede korelasyon gözlemlendi, ancak indükte balgam ve BAL tetkikleri teknik olanaksızlık nedeniyle planlanamadı.

Çalışmadaki allerjik olgularda tedavi altında ve yakınmasız olmasına rağmen saptanan yüksek ECP düzeyleri, bu durumun allerjik ortamın baskılanmamış olması ve allerji parametreleri

ile ilişkili olabileceğini daha çok düşündürdü. Bu amaçla grup 1'de bakılan tIgE ve sIgE düzeyleri ile ECP değerleri arasında korelasyon gözlenmezken, grup 1 ECP düzeyleri ile "prick" testte akar allerjisi pozitifliği arasında ki-kare testi ile anlamlı derecede ilişki saptandı.

Bazı çalışmalarda yüksek ECP düzeyi olguların yetersiz antiinflamatuvar tedavi almalarına veya semptomlarının bulunmasına bağlanmaktadır^[9,10]. Ancak çalışmadaki olguların hepsi inhale steroid tedavi altında bulunmaktadır ve semptom belirtmemektedir. Nitekim inhale steroid tedaviye rağmen eozinofili ve/veya ECP yüksekliğinin sürdüğünü bildiren çalışmalar da mevcuttur^[8,11]. Bu durum olguların inhale steroid tedaviye yetersiz yanıt verdikleri veya genetik açıdan yüksek eozinofil aktivitesine sahip olmaları şeklinde de varsayılabilir. Ancak akarların yoğun olduğu İstanbul bölgesinde yine akar allerjisi olanlarda gözlenen yüksek ECP düzeyleri bu durumun farklı bir bakış açısı ile de incelenebileceğini akla getirmiştir. Takeda ve arkadaşlarının akar duyarlı astımlı çocuklarda da kontrollere göre yüksek saptadıkları ECP düzeyleri yine bunu desteklemektedir^[12]. Lopuhaa ve arkadaşları, ev tozu akarı allerjisi olan 26 astımlı ve ev tozu akarı allerjisi olup astımı bulunmayan 26 perennial rinitlide, ECP düzeyleri arasında anlamlı fark saptamamışlardır^[13].

Buna karşın Melbostad ve arkadaşları, atopik ve nonatopik astımda ECP düzeylerini anlamlı derecede farklı bulmamışlar ve ECP yüksekliğinin atopiye spesifik olmadığını savunmuşlardır^[14].

Çalışmamızda akarlara deri testi pozitifliği ile ECP düzeyleri yüksekliği arasında ilişki saptanırken, akarlara karşı sIgE ile ECP düzeyi arasında anlamlı ilişki saptanmadığı gözlemlendi. Bu durum olgu sayısı yetersizliği veya her iki parametrenin kanda yeterli yanıt oluşturmamasından kaynaklanıyor olabilir. Nitekim Nahm ve arkadaşları da yaptıkları çalışmada, astımlılarda balgamda ECP düzeyleri ile balgamdaki ev tozu akarlarına karşı sIgE ile anlamlı ilişki saptarlarken, kan düzeylerinde aynı ilişkiyi elde edememişlerdir^[15].

Sonuç olarak; astım olgularında saptanan ECP yüksekliğini oluşturan birçok parametreden birinin de akar allerjisi ile ilgili olabileceği düşünülmüştür.

KAYNAKLAR

1. Bousquet J, Chané P, Lacoste JY ve ark. Eosinophilic inflammation in asthma. *N Engl J Med* 1990;323:1033-9.
2. Frigas E, Mofojima S, Gleich GJ. The eosinophilic injury to the mucosa of the airways in the pathogenesis of bronchial asthma. *Eur Respir J* 1991;13 (Suppl):123-35.
3. Parra A, Sanz MI, Vila L ve ark. Eosinophil soluble protein levels, eosinophil peroxidase and eosinophil cationic protein in asthmatic patients. *J Invest Allergol Clin Immunol* 1999;9:27-34.
4. Fujimoto K, Kubo K, Matsuzawa Y, Sekiguchi M. Eosinophil cationic protein levels in induced sputum correlate with the severity of bronchial asthma. *Chest* 1997;112:1241-7.
5. Global Initiative for Asthma (GINA). Global strategy for asthma management and prevention. NHLBI/WHO workshop report. National Institute of Health. National Heart, Lung, and Blood Institute. Publication No: 02-3659, Revised 2002.
6. Niimi A, Amitani R, Suzuki K ve ark. Serum eosinophilic cationic protein as a marker of eosinophilic inflammation in asthma. *Clin Exp Allergy* 1997;28:233-40.
7. Louis R, Shute J, Biagi S ve ark. Cell infiltration, ICAM-1 expression, and eosinophil chemotactic activity in asthmatic sputum. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155:466-72.
8. Demir T, Gemicioğlu B, Mutlu B ve ark. Astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) olgularında serum eozinofilik katyonik protein (ECP) ve triptaz düzeyleri. *T Klin Allerji-Astım* 2000;2:14-8.
9. Parra A, Prieto I, Sanz MI ve ark. Serum ECP levels in asthmatic patients: comparison with other follow-up parameters. *Allergy Asthma Proc* 1996;17:191-7.
10. De Backer W. Measures of inflammation in serum. *Eur Respir Rev* 1998;8:1098-102.
11. Laviolette M, Malmstrom K, Lu S ve ark. Montelukast added to inhaled beclomethasone in treatment of asthma. Montelukast/Beclomethasone Additivity Group. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:1862-8.
12. Takeda K, Shibasaki M, Imoto N ve ark. Comparison of basophil histamine release, eosinophil cationic protein and nonspecific airway responsiveness between mite-sensitive asthmatic and nonasthmatic children and nonallergic control. *Clin Exp Allergy* 1996;26:918-25.
13. Lopuhaa CE, Out ta, Jansen HM ve ark. Allergen-induced bronchial inflammation in house dust mite-allergic patients with or without asthma. *Int Arch Allergy Immunol* 2003;130:266-74.
14. Melbostad E, Venge P, Danielsen TA, Kjuus H. Serum eosinophil cationic protein in asthma of farmers. *Scand J Clin Lab Invest* 2000;60:111-8.
15. Nahm DH, Kim HY, Park HS. House dust mite-specific IgE antibodies in induced sputum are associated with sputum eosinophilia in mite-sensitive asthmatics. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2000;85:129-33.