

# Eosinofil Proteinleri ve Bu Proteinlerden Eosinofilik Katyonik Protein (ECP)'in Astımla İlişkisi

Dr. Sertaç ÖZALP (1), Dr. Arzu AKÇAY (1), Dr. Rengin ŞİRANECİ (1), Dr. Osman PINÇE (1), Abdullah YÜKSEL (2)

## ÖZET

Astım, çocukluk çağının en sık görülen hastalıklarından birisidir. Sıklığının gittikçe artması, kronik bir hastalık olması, ekonomik ve psikososyal kayıpları nedeniyle tanısı ve tedavisi önem kazanmıştır. Çocuklarda daha sık olarak görülen turu ekstremsk yani allerjik astmadır. Bu yüzden hastalığın laboratuvar tetkikleri içinde allerji testleri önemli yer tutar. Bunlardan bazıları serum IqE düzeyi, cilt testleri, nazal smear, serum eosinofil sayısı ve spesifik, IqE'dir. Son yıllarda önem kazanan ve yapılan yeni çalışmalarla tanı ve takipte kullanılmaya başlanan diğer bir bulgu ise eosinofilden kaynaklı bazı protein yapıdaki maddelerin serum ve bronkoalveolerlavaj sıvısındaki düzeylerinin ölçülmesidir. Biz araştırmamızda kullanım alanlarına girmeden bu maddelerin ve en önemlisi olan ECP (serum eosinofilik katyonik protein)'nin genel özellikleri hakkında en son bilgileri derledik.

**Anahtar Kelimeler:** Astım, Eosinofilik Katyonik Protein

## SUMMARY

**Relationship between asthma and eosinophilic cationic protein.**

Asthma is one of the common disease of the childhood. As it is a chronic disease, became more widespread in time and carries many physicosocial and economical problems; the diagnosis and the cure of the disease is important. The ekstremsk (allergic) asthma is more common among the children. Because of that reason the allergy tests are being used more often for the diagnosis. The level of serum IqE, nasal smear, number of eosinophiles in serum and the level of specific IqE are the examples for these. In recent years by the results of the researches, the level of some proteins in BAL(bronco alveoler lavaj liquid) and serum that are derivated from eosinophiles are being used for diagnosis. In our research we rewieved the last knowledges about the genral properties of these proteins and especially about ECP without searching for how they are being used or diagnosis.

**Key words:** Asthma, Eosinophilic Cationic Protein

## GİRİŞ

Astım bronşiyale her yaşta sık görülen bir solunum yolu hastalığıdır. Astma paroksizmal oksürük, wheezing ve dispne atakları ile seyreden, artmış hava yolu cevabı, bronşial inflamasyon ve genellikle reversibl olan bronş obstruksiyonu ile karakterize bir hastalıktır. Ülkemizde çocukluk yaşlarında astımın sıklığı %8-10 arasındadır. Ayrıca astım, hastanelerin

acil servislerini önemli derecede meşgul eden, bireyin hayat standartlarını düşürebilen, işgücü kaybı ve okul devamsızlığına neden olan; ekonomik, sosyal ve bireysel bir çokyonu olan bir hastalıktır. Hasta ve ailesinde psikososyal gelişim ve ilişkilerde anormalliklere yol açarak normal hayat standartlarında potansiyel sınırlamalara yol açmaktadır. Yaşamın ilk yıllarında erkeklerde, adolesan dönemde kızlarda daha sık, erişkinlerde ise her iki cinste de eşit oranda görülür. Son yapılan çalışmalar hastalığın hem prevalansı hem de hospitalizasyon oranının arttığını göstermektedir. Astımın tanısı öykü, fizik muayene ve yardımcı laboratuvar testlerine dayanır. Tanıda çelişkide kalınan vakalarda kullanılmak ve tanıyı desteklemek amacı ile çeşitli laboratuvar testleri geliştirilmiştir. Bunlar arasında kandaki toplam eosinofil sayısı, serum total IgE düzeyi, cilt testleri, in vitro olarak özgül antijen-

SSK Bakırkoy Doğumevi Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim Hastanesi, Çocuk Kliniği (1),  
SSK İstanbul Eğitim Hastanesi, Dahiliye Kliniği (2)

lere karşı gelişen spesifik IgE'yi gösteren testler, akciğer fonksiyon testleri, PEF ölçümlerinde varyabilite ve bronş provokasyon testleri sayılabilir.

Astımın patogeneğinde pek çok faktör rol almaktadır. Ancak son on yılda yapılan çalışmalar hastalığın ortaya çıkmasında en önemli rolün bronşlardaki inflamasyona ait olduğunu göstermiştir. Eosinofiller salgıladıkları granül proteinleri ve bronkokonstriktör özelliği olan mediatörlerle inflamasyonun esas hücreleridir. Eosinofillerden salgılanan eosinofilik katyonik protein (ECP) ve majör bazik protein (MBP) solunum yolu epitelinde hasar oluşturur. Eosinofil sayısı ile astma ağırlık derecesi koreledir. Hava yollarındaki aktif eosinofil sayısı atopik astımlarda, atopik olmayan astımlara oranla oldukça yüksektir. Allerjik astma için spesifik kabul edilen eosinofilik infiltrasyonun değerlendirilmesi tanıda önemlidir. Eosinofilik katyonik protein (ECP) eosinofillerin hem sayı, hem de aktivasyonunu yansıttığı için tanıda eosinofil sayısından değerlidir. Bu amaçla BAL (bronkoalveder lavaj) sıvısında, balgamda ve serumda ECP düzeyleri saptanabilir.

Akut astıma atağı sırasında bronş mukoza değişikliklerine ait veriler sınırlıdır. Allerjen inhalasyonu ile geç reaksiyon sırasında alınan BAL'daki eosinofil sayılarında, periferik eosinofili ve bronş aşırı cevablığı ile orantılı olmak üzere, artma olduğu bilinmektedir. Astmatik hastada hem stabil dönemde, hem de astma atağı sırasında bronş biopsi örnekleri incelenmiş ve astma atağı sırasında bronş mukozasındaki eosinofil sayılarının 100 kat daha fazla olduğu saptanmıştır.

## EOSİNOFİLLER:

Paul Erlic 1879 yılında asit boya ile boyanan stoplazmik granülleri olan bazı lökosit tiplerini tanımlamış ve granüllerin eosin boyası ile boyanmaları nedeniyle bu hücre tiplerini eosinofil olarak isimlendirmiştir.

**Morfoloji:** Eosinofiller iki loblu nükleusları olan, morfolojik olarak diğer granulositlere benzemekle beraber, nötrofillerden biraz daha büyük, stoplazmalarında sekretuar granüller ihtiva eden, yuvarlak veya ovoid görünümdeki hücrelerdir. Eosinofillerin stoplazmalarında granüllere ilaveten mitokondri, glikojen, membrana bağlı vezikül, tübüller ve lipid cisimcikler bulunur. Golgi cisimciği ve serbest membrana bağlı ribozomlar ise olgun insan eosinofillerinde az sayıdadır. Eosinofillerin stoplazmik granülleri aşağıdaki şekilde tanımlanmaktadır:

**1- Sekonder (spesifik) granüller:** Eosinofil

stoplazmasındaki en fazla sayıda bulunan yoğun, büyük sferik granüllerdir. Kristaloid bir çekirdeği ve bunu çevreleyen dış matriksleri vardır ve granül membranına bağlıdır.

**2- Primer granüller:** Eosinofil stoplazmasında daha az sayıda bulunurlar. Kristaloid ihtiva etmeyen, büyük yoğun ve sferik şekilli granüllerdir. Charcot-Leydencrystal(cic) proteini (lizofostorilaz), bu granül tipinde lokalizedir.

**3- Küçük yoğun granüller**

**4- Vezikülotubuler Yapılar:** Yoğun olmayan, yuvarlak, C şeklinde veya uzun yapılardır. İnsan eosinofillinin membrana bağlı küçük, yoğun granülünden farklı yapılardır.

Eosinofillerin ihtiva ettikleri biokimyasal bileşikler ve subcellüler lokalizasyonları tablo 3'te görülmektedir.

## EOSİNOPOEZ:

Eosinofiller kemik iliğinde multipotent stem hücreden gelişirler. Bu hücreden sırası ile pluripotent stem hücre ve eosinofil/bazofil koloni oluşturan unitler (CFU) meydana gelir. IL-3 ve GM-CSF, CFU'nun oluşumunda, IL-5 ise eosinopoezin daha geç döneminde etkilidir. Eosinofillerin kemik iliğinden geçiş süresi 4,3 gündür. Periferik kanda ise yarı ömrü 1 günden kısadır, sonra endotel hücrelerinin bağlantı yerlerinden diapedez ile dokulara geçerler. Damar permabilitesindeki değişiklikler eosinofillerin dokuları infiltre etme yeteneğini etkiler. Dokulardaki yaşam süreleri 2-5 gün arasındadır. Doku eosinofillerinin periferik eosinofillere oranı 100/1'dir. En fazla sindirim kanalında bulunurlar, akciğerlerde az sayıda eosinofil bulunur, deride ise eosinofil bulunmaz.

## Eozinofil Granül Proteinleri:

Eosinofillerin sekonder granülleri içinde 4 ayrı katyonik protein bulunmaktadır.

**1- Major Bazik Protein(MBP):** Sekonder granüllerde bulunan, 117 aminoasit içeren tek polipeptid zincirli bir proteindir. MBP birçok parazitlere ve doza bağımlı olarak insan trakea, bronş ve intestinal epitel hücrelerine toksiktir. 50-100 mg/ml konsantrasyonu bronş epitelini tamamen tahrip edebilir. Epitel hücrelerinin kaybı sonucu endotel kaynaklı relaksasyon faktörü (EdRF) kaybı olacağı ve bu da bronşial hiper-reaktiviteye neden olacağı için astım patogeneğinde MBP'nin de rolü vardır. Astmatiklerde balgam ve BAL sıvısında yüksek düzeyde MBP bulunduğu ve bunun düzeyinin hastalığın ağırlık derecesi ile korele olduğu bildiril-

miştir. MBP nötrofilleri uyararak superoksit ve lizozim salgılanmasına, ayrıca kompleman yolu aktivasyonunu etkiler.

### 2- Eosinofilden Türeyen Nörotoksin (EDN):

Granül matriksinin tek zincirli ve molekül ağırlığı 18-19 kDa olan diğer katyonik proteindir. Amino asit sıralaması ECP (eosinofilik katyonik protein) ile %40 aynıdır. EDN de, ECP gibi T lenfosit proliferasyonunu engeller. Ayrıca güçlü bir nörotoksindir. EDN'nin bunların dışındaki fizyolojik etkileri tam aydınlatılmamıştır. Ancak astmalı hastalarda ECP ile birlikte EDN konsantrasyonunun da arttığı gösterilmiştir.

**3- Eosinofil Peroksidaz (EPO):** Granül matriksinde bulunan iki zincirli bir katyonik proteindir. Bazik aminoasitlerden oluşmuştur. EPO birçok bakteri, parazit, mast hücreleri ve tümör hücreleri üzerine öldürücü etkiye sahiptir. EPO+ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve halid sistemi, inflamasyon ve erken aşırı duyarlılık reaksiyonları sırasında değişik lökotrienlerin konsantrasyonunu regüle edebilir. Bulgular göstermektedir ki EPO hava yolu mukozasında hasar oluşturabilir ve bu hasar MBP'nin oluşturduğu hasara eşittir.

Eosinofillerden granül proteinlerine ilaveten CLC proteini ve fosfolipaz gibi enzimler, lipid mediatörler, toksik oksijen mediatörleri, substans P olarak adlandırılan bir noropeptid de salınmaktadır.

Eosinofillerden salgılanan ve astma patogenezinde de önemi olan granül proteinleri tablo 4'de görülmektedir. Eosinofil kaynaklı iltihabi mediatörler ve proteinlerin topluca etkileri tablo 5'te gösterilmiştir.

### 4- Eosinofilik Katyonik Protein (ECP):

İlk kez 1971 yılında KML (Kronik Meyeloid Losemi)'li hastaların myeloid hücrelerinin granüllerinden elde edilmiştir.

ECP'yi kodlayan gen 14. kromozomda q24-q31 pozisyonundadır.

ECP, bazik bir aminoasit olan argininden çok zengin olduğu için izoelektrik noktası yüksektir.

ECP'nin en önemli biyolojik fonksiyonu hücre membranında porlar oluşturup, hücre içi su ve küçük moleküllerin, hücre dışına çıkmasını sağlayarak oluşturduğu sitotoksik etkidir.

ECP'nin in vitro olarak da gösterilmiş diğer fonksiyonları şunlardır:

1- Antijene yanıt olarak proliferen T hücrelerini inhibe etmek.

2- B lenfositler tarafından yapılan immunglobulin sentezini inhibe etmek.

3- Histamin salımı ve bazofil hücrelerden histamin serbestleşmesini arttırmak.

4- Fibroblastlarda proteoglikan metabolizmasını

etkileyerek kollagen yapımını arttırmak.

5- Hava yollarındaki epitel hücrelerinden mukus sekreyonunu arttırmak.

Bütün bunların dışında ECP'nin başka önemli biyolojik etkileri vardır. Bunlar koagulyasyona daha fazla olmak üzere koagülatif ve fibrinolizisi arttırıcı etkileridir. Bu etkisi özellikle trombo-embolik olaylar ve çok yüksek plazma ECP değerleri ile seyreden hipereosinofilik sendromda daha belirgindir.

Normal koşullarda ECP nonsitotoksik ve biyolojik olarak aktive olmayan bir proteindir. Ancak patolojik durumlarda değişik sitokinler tarafından uyarılıp; güçlü ve bio-aktif bir moleküle dönüştürülür. ECP daha çok heparin gibi düşük molekül ağırlıklı maddelere bağlanır, ECP'yi bağlayan tek yüksek ağırlıklı molekül alfa-2 makroglobulindir.

Astma, çeşitli allerjik hastalıklar, inflamatuvar bağırsak hastalıkları ve romatizmal hastalıkların çoğunda oluşan doku hasarı eosinofillerin istilasına ve ECP gibi onlardan salınan birtakım maddelerin akitvitesine bağlıdır. Ayrıca ECP'nin fibrotik olaylarda önemli rolü olduğu ve buna bağlı olarak etkilenen organlarda yüksek konsantrasyonlarda bulunduğu saptanmıştır. Son olarak ECP'nin major fizyolojik rolünün zararlı parazitleri öldürmek olduğunu söylemek gerekir. N-terminal aminoasit sırası eosinofilden türeyen nörotoksin (EDN) ve ribonukleaz (R Nase) ile benzerlik gösterir.

ECP'ye karşı oluşmuş monoklonal antikorlarla bu molekülün depo ve salgılanan şeklinin farklı olduğu gösterilmiştir. EG1 Antikoru ECP'nin hem depo ve hem de salgılanan şekillerini tanıır. EG2 ise ECP'nin yalnızca salgılanan şeklini tanımaktadır. EG2 ayrıca benzerliği nedeniyle EDN ile de reaksiyona girebilmektedir. EG2 istirahatteki eosinofillerle reaksiyona girmez. Bu özelliği nedeniyle aktive eosinofilleri doku ve kanda ayırt etmek için kullanılır. ECP'nin salgılanan şekli eosinofil aktivasyonunun bir işaretidir.

ECP lenfosit proliferasyonunu inhibe edebilir. Normal kişilerde deri içine uygulandığında PPD cevabının inhibe edildiği gözlenmiştir.

ECP, solunum yolu epiteli üzerinde toksik etkisi nedeniyle dökülmeye sebep olur. Astım atağı nedeniyle ölen hastalarda, immunohistokimyasal tetkikler ile akciğer dokusunda ECP ve MBP'nin epitel tahribi ile ilgili olarak ekstrasellüler depolanması gösterilmiştir. Astmalı hastalarda yapılan birçok çalışmada antijen provakasyonu sonrası, bronş hiperreaktivitesi, eosinofil sayıları ve serum ECP düzeyleri arasında pozitif korelasyon gösterilmiştir.

Ayrıca serum ECP ve EPO düzeylerinin provakasyon sonrası hiperreaktivite gelişen hastalarda, provakasyon öncesinde ölçülmesinin de inflamasyon

gelişeceğini önceden gösterebileceği öne sürülmüştür. ECP'nin koagülasyon ve fibrinolitik etkilere de bilinmektedir. Heparine bağlanır ve antikoagulan etkisini antagonize eder. Plazma koagülasyon zamanını doza bağımlı olarak kısaltır. ECP'nin bu etkisi FXII'den yoksun plazmada görülmektedir. Yüksek konsantrasyonlarda pıhtılaşma zamanını uzatmaktadır. ECP kallikreinin etkisini de artırır. Ayrıca plazminojeni aktive ederek fibrinolizisi çabuklaştırır.

ECP'nin sağlıklı bireylerdeki normal değeri, geometrik ortalama (%95 cont limit) 4.8 mg/L'dir. 90-95 üst persantiller ise 9.9 ve 11.8 mg/L'dir. Yaşa ECP, patogenezdaki rolünden dolayı, astım hastalığının tanısı ve takibinde düzeyi ölçülerek kullanılmaktadır. Bu konuyla ilgili araştırma ve yayınlar devam etmekte olup ayrı bir makale konusu olarak incelenebilir.

- 9- **White MV, Kaliner NA.** Mast cells and asthma In: Kaliner MA, Barnes PJ, Persson CA, eds: Asthma its Pathology and Treatment New York: Marcel Pekker Inc. 1991; 409-429.
- 10- **Unnur Steina B, Stuart FQ Busse WW.** Eosinophils and asthma In: Busse WW. Holgesi eds. Asthma and Rhinitis Ist ed, Boston Blackwell Scientitic Publ, 1995; 328-46.
- 11- **Weller PF, Dourak AM,** Human eosinophils: Development, maturation and functional morphology In: Busse W, Holgate St, eds: Asthma and Rhinitis 1. st edition Boston: Blackwell Scientitic Publ, 1995; 255-74.
- 12- **Sur S, Adolphson CR Gleich GJ.** Eosinophils. In: Middleton E jr, Reed LE, EF, eds, Allergy Principles and Practice 4 th ed, vol 1 st Louis: CV Mosby 1993; 169-200.

## KAYNAKLAR

- 1- **Dantzker DR, Dingelton SK,** Pierce JA et al. Standarts for the diagnosis and care of patients with chronic destructive pulmanory disease 1987; 136: 225-243.
- 2- **National astma education program.** Expert Panel Report. Guidelines for the diagnosis and Management of astma. J Allergy Clin Immunology 1991; 88: 427-438.
- 3- **Graves EJ,** Detailed diagnosed and procedures. National Hospital Discharged Survey 1990, National Center for Health Statistics, Vital Health Stat 1992; 13(113).
- 4- **Weiss KB, Wagner DK.** Changing patterns of asthma identifying target popultions at high risgue. JAMA 990; 264: 1683-1687.
- 5- **Ellis FE.** Astma in infancy and childhood. In: Middeiton Ejr, Reed CE, Ellis EF, eds. Allergy; Principles and Practice 4 th ed. Vol 2 St Louis: Mosby, 1993; 1224-1262.
- 6- **Hamburger HA, Katzman JA;** Methods in Laboratory immunology in: Midelton ejr, Reed LE, Ellis EF, eds Allergy; Principles and Practice 4 th ed. Vol 1 st Louis CV Mosby 1993; 573-594.
- 7- **Ounby DR:** Allergy testing: In vivo versus in vitro. Pediatr. Clin North America 1988; 35: 995-1009.
- 8- **Laitinen LA, Laitinen A,** A Pathology of human asthma in: Kaliner NA, Barnes PJ, Persson CGA, eds: Asthma, its Pathology and treatment Vol 49 NewYork: Marcel Dekkr Inion 1991; 103-134.