T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

OMALİZUMAB TEDAVİSİNE DİRENÇLİ HASTALARDA IGE RESEPTÖR İNHİBİSYONU İLE İLİŞKİLİ GENLERİN ARAŞTIRILMASI

FATMA EMRE TURAN TAŞOLAR

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. ENDER MEHMET COŞKUNPINAR

TIBBİ BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI
TIBBİ BİYOLOJİ DOKTORA PROGRAMI

DOKTORA TEZİ
ARALIK/2025

BEYAN

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Mevcut tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu,
- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Mevcut tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

(Fatma Emre TURAN TAŞOLAR)

(08.12.2025)

İTHAF

“Eşime ve çocuklarıma ithaf ediyorum”

TEŞEKKÜR

Doktora sürecinde ve tez çalışmamın her aşamasında desteğini hissettiğim, bilgi ve tecrübeleri ile yolumu aydınlatan değerli hocam, Tıbbi Biyoloji ABD başkanı, danışmanım Prof. Dr. Ender COŞKUNPINAR'a çok teşekkür ederim.

Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hamidiye Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda görevli hocalarıma ve asistan arkadaşlarıma destekleri için çok teşekkür ederim.

Tez çalışmasındaki hastaların numunelerinin toplanmasını sağlayan meslektaşım Dr. Cihan ÖRÇEN'e çok teşekkür ederim.

Çalışmamın ekzom dizileme ve analiz kısmında laboratuvar imkanlarını benimle paylaştıkları için İntergen Genetik Tanı Merkezi yöneticilerine ve çalışanlarına, her zaman sorularıma cevap verme nezaketinde bulunan İntergen biyoinformatik uzmanı Dr. Bora ERGİN'e destekleri için çok teşekkür ederim.

Çalışmaya katılmayı kabul etmiş tüm hastalara çok teşekkür ederim.

Bitmeyen öğrenme aşkım ve öğrencilik maceramda her zaman yanımda olduğunu bildiğim en büyük destekçim, tez hastalarının takibini üstlenen, tez yazım dönemimde ebeveynliği tek başına idare eden canım eşim, meslektaşım Dr. Oktay TAŞOLAR'a, onlardan çaldığım annelik zamanlarımda beni sabırla karşılayan yavrularım Mehmet Yusuf TAŞOLAR'a ve Elif Gülce TAŞOLAR'a sonsuz teşekkür ederim.

Bu tez çalışması 'Doktora Tez Projeleri' kapsamında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından Proje No: 2024/037 ile ve TUSEB Türkiye Sağlık Enstitüleri Başkanlığı 2024-A3- 01 Proje Destek Programı kapsamında Proje No: 41036 ile desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı her iki kuruma da teşekkür ederim.

Fatma Emre TURAN TAŞOLAR

İÇİNDEKİLER

İTHAF iv
TEŞEKKÜR v
İÇİNDEKİLER vi
TABLOLAR LİSTESİ viii
ŞEKİLLER LİSTESİ ix
SİMGELER VE KISALTMALAR x
ÖZET xii
INVESTIGATION OF GENES ASSOCIATED WITH IGE RECEPTOR INHIBITION IN PATIENTS RESISTANT TO OMALIZUMAB TREATMENT xiv
ABSTRACT xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. ASTIM 3
2.1.1. Astım Epidemiyolojisi ve Risk Faktörleri 3
2.1.2. Astım Patogenezi 4
2.1.3. Astımda Tanı 6
2.1.3.1. Şikayetler 6
2.1.3.2. Fizik muayene 6
2.1.3.3. Solunum fonksiyon testleri 6
2.1.3.4. Akciğer grafisi 7
2.1.4. Astım Fenotipleri 8
2.1.4.1. Allerjik astım 8
2.1.4.2. Allerjik olmayan astım 8
2.1.4.3. Öksürük varyant astım 8
2.1.4.4. Erişkin (geç) başlangıçlı astım 8
2.1.4.5. Kalıcı hava akım kısıtlaması olan astım 8
2.1.5. Astım Şiddetinin Değerlendirilmesi 8
2.1.6. Astım Tedavisi 10
2.1.6.1. Semptom giderici ilaçlar (kurtarıcı ilaçlar) 10
2.1.6.2. Kontrol edici ilaçlar 10
2.1.6.3. Ek tedaviler 10
2.2. IMMÜNGLOBÜLİN E VE FCε RESEPTÖRLERİ 11
2.2.1. IgE 11
2.2.2. FcεRI 14

2.2.3. FcεRII 14
2.3 OMALİZUMAB 15
2.3.1. Endikasyonlar 16
2.3.2. Farmakokinetik ve Pozoloji 18
2.3.3. Yan Etkiler 18
3. GEREÇ VE YÖNTEM 19
3.1. ÇALIŞMA DİZAYNI 19
3.1.1. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri 19
3.1.2. Çalışmaya Alınmama Kriterleri 20
3.2. GÖNÜLLÜLERDEN KAN ÖRNEKLERİNİN ALINMASI 20
3.3. DNA ÖRNEKLERİNİN ELDESİ VE SPEKTROFOTOMETRİK ÖLÇÜM 20
3.3.1. DNA İzolasyon Aşamaları 21
3.4. TÜM EKZOM DİZİLEME (WES) 21
3.5.VARYANT ANALİZİ VE SINIFLANDIRMA 22
3.6. BİYOİNFORMATİK ANALİZ 22
3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZ 23
3.8. HEDEF GEN PANELİNİN OLUŞTURULMASI 23
4. BULGULAR 24
4.1. GÖNÜLLÜLERİN KLİNİK VE DEMOGRAFİK ÖZELLİKLERİ 24
4.1.1. Klinik ve Demografik Değerlendirme Sonuçları 24
4.2. GENOMIK DEĞERLENDIRME SONUÇLARI 27
4.2.1 Omalizumab Dirençli Hastalarda Homozigot Genotip Açısından Anlamlı Olduğu Tespit Edilen Genler Ve Varyantlar 27
4.2.2 Omalizumab Dirençli Hastalarda Heterozigot Genotip Açısından Anlamlı Olduğu Tespit Edilen Genler Ve Varyantlar 32
4.2.3 Allelik Olarak OD Grubunda Anlamlı Bulunan Genler Ve Varyantlar 36
4.2.4 Sadece OD Grubunda Tespit Edilen Genler Ve Varyantlar 39
4.2.5 OD Grubunda Tespit Edilen Yeni Varyantlar 42
5. TARTIŞMA 44
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 50
KAYNAKLAR 52
EKLER ..... **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1: Spirometre ile ölçülebilen akciğer hacim ve kapasiteleri 7

Tablo 2.2: Astım kontrol testi 9

Tablo 2.3: Omalizumab dozaj tablosu 17

Tablo 3.1: IgE ve ilişkili mekanizmalarda etkili genler ……..……...……...…….23

Tablo 4.1: Gönüllülerin klinik ve demografik verileri……25

Tablo 4.2: Hemogram değerleri ve biyokimyasal değerler…….26

Tablo 4.3: OD grubunda homozigot mutasyon tespit edilen varyantlar…….28

Tablo 4.4: IGHE (rs61984222 ve rs61984224) genotip ve allel dağılımları……..29

Tablo 4.5: IGHG2 (rs11626188) genotip ve allel dağılımları…….30

Tablo 4.6: C3 (rs11085194) genotip ve allel dağılımları……...…….30

Tablo 4.7: DOCK8 (rs10217719) genotip ve allel dağılımları 31

Tablo 4.8: SLC9A3 (rs2303736) genotip ve allel dağılımları…….31

Tablo 4.9: OD grubunda heterozigot mutasyon tespit edilen varyantlar ……...33

Tablo 4.10: IL4R (rs1041973) genotip ve allel dağılımları……33

Tablo 4.11: FCER2 (rs2287867, rs2287868) genotip ve allel dağılımları …….. 34

Tablo 4.12: IL1RL1 (rs1041973) genotip ve allel dağılımları……35

Tablo 4.13: OD grubunda allelik olarak anlamlı varyantlar 37

Tablo 4.14: Sadece OD grubunda tespit edilen varyantlar……..41

Tablo 4.15: Yeni (novel) varyantlar……43

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Astımda basamak tedavisi şeması 11

Şekil 2.2: IgE molekülü 12

Şekil 2.3: 14. Kromozom; IgE ağır zincir kodlama bölgesi 12

Şekil 2.4: IgE hücre yüzey reseptörleri: FcεRI ve FcεRII 15

Şekil 2.5: Omalizumab IgE bağlanması 16

Şekil 4.1: Homozigot anlamlı varyantların hastalardaki dağılımı şeması..... 29

Şekil 4.2: Heterozigot anlamlı varyantların hastalardaki dağılım şeması 35

Şekil 4.3: Heterozigot genlerin etkileşim şeması 36

Şekil 4.4: Allelik olarak anlamlı genlerin etkileşim şeması 39

Şekil 4.5: Sadece OD grubunda tespit edilen varyantların hastalardaki dağılımı……42

Şekil 5.1: Omalizumab etki mekanizması…….45

SİMGELER VE KISALTMALAR

ACT : Astım Kontrol Testi

ATS : Amerika Toraks Derneği

BPT : Bronş Provokasyon Testi

C/EBP : CCAAT/Güçlendirici Bağlayıcı Protein

CSR : Sınıf Değiştirme Rekombinasyonu

DC : Dendritik Hücreler

EMA : Avrupa İlaç Ajansı

ERS : Avrupa Solunum Araştırmaları Derneği

FDA : ABD Gıda ve İlaç Dairesi

FeNO : Ekshale Nitrik Oksit

GINA : Küresel Astım Örgütü

GSDMA : Gasdermin A

HLA-DQA1: Majör Histokompatibilite Kompleksi Sınıf II DQ A1

HLA-DQB1: Majör Histokompatibilite Kompleksi Sınıf II DQ B1

ICS : İnhale Kortiko Steroid

ICS+ LABA: İnhale Kortiko Steroid + Uzun Etkili Beta Agonist

IgE : İmmünglobülin E

IgH : İmmünglobülin Ağır Zinciri

IL1R1 : İnterlökin-1 Reseptörü 1

IL : İnterlökinler (4, 5,6,9,13, 25, 33)

IL-4Ra : İnterlökin 4 Reseptör alfa

IL6R : İnterlökin 6 Reseptörü

ITAM : Tirozin Bazlı Aktivatör Motifi

JAK : JAnus Kinazlar (JAK1, JAK2, JAK3)

KOAH : Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı

LAMA : Uzun Etkili Muskarinik Antagonisti

LT : Lökotrienler (C4, D4, E4)

LTRA : Lökotrien Reseptör Antagonisti

NF-κB : Nükleer Faktör-κB

NSAİ : Non Steroid Anti İnflamatuar

OD : Omalizumab Tedavisine Dirençli

PAX5 : B Hücresine Özgü Aktivatör Proteindir

PEF : Pik Ekspiratuar Akım

PGD2 : Prostaglandin D2

PYHIN1 : IF-İndüklenebilir Protein X

SABA : Kısa Etkili Beta Agonist

SBÜ : Sağlık Bilimleri Üniversitesi

STAT 6 : Transkripsiyon Aktivatör Faktörü 6

Th2 : T Helper 2

TLR1 : Toll Benzeri Reseptör 1

TRAF : Tümör Nekroz Faktör Reseptörü İle İlişkili Faktör

TSLP : Timik Stromal Lenfopoietin

WES : Tüm Ekzom Dizileme

ZPBP2 : Zona Pellucida Bağlayıcı Protein 2

OMALİZUMAB TEDAVİSİNE DİRENÇLİ HASTALARDA IGE RESEPTÖR İNHİBİSYONU İLE İLİŞKİLİ GENLERİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Amaç: Bu çalışmanın amacı şiddetli astım hastalarının tedavisinde kullanılan bir monoklonal antikor olan "Omalizumab" molekülüne dirençli hastalarda IgE ve reseptörleri ve ilişkili genlerin direnç mekanizmasındaki rollerini ortaya koymaktır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamıza şiddetli alerjik astım tanısı almış, standart bronkodilatör tedavi yanında Omalizumab tedavisini en az 16 hafta kullanmış olan hastalardan gönüllü olanlar dahil edildi. Gönüllüler 2 gruba ayrıldı. Birinci grup omalizumab tedavisi ile klinik ve semptomatik iyileşme sağlanan, hastalığı kontrol altına alınmış olanlardan; ikinci grup ise omalizumab tedavisine rağmen yeterli klinik, semptomatik iyileşme hali tespit edilmemiş, tedaviden fayda görmeyen hastalardan oluşturuldu. Periferik kan örneklerinden DNA izolasyonu ve tüm ekzom dizileme analizi yapılarak Omalizumab molekülüne direnç ile ilişkili olabilecek varyantların tespiti yapıldı.

Bulgular: Tüm ekzom dizileme analizi sonuçlarına göre toplamda 836 gb veri elde edilmiştir. Genomik değerlendirme sonucunda hastaların patojenik, olası patojenik ve benign varyantları tespitleri edilmiştir. Omalizumab dirençli grupta homozigot mutasyon tespit edilen varyantlar IGHE (rs rs61984224, rs61984222), IGHG2 (rs11626188), C3 (rs11085194), DOCK8 (rs10217719), SLC9A3 (rs2303736); heterozigot mutasyon tespit edilen varyantlar FCER2 (rs2287867, rs2287868, rs55828544), IL4R (rs1801275), IL1RL1 (rs1041973); allelik olarak anlamlı varyantlar DOCK8 (rs10217568, rs10758598, rs1329377, rs145010074), FCER2 (rs11672993), IL4R (rs3024570, rs3024544, rs3024536), IL1RL1 (rs12999542); sadece tedaviye cevapsız grupta tespit edilen varyantlar IL4R (rs1805015, rs3024676, rs1805016, rs2234924, rs1805013, rs2234898, rs2234900, rs1805011), FCER1G (rs11590967) lardır. Ayrıca SLC9A3, FCER2, FCGR2B, GATA2, WDPCP genlerinde de veri tabanlarında daha önce tanımlanmamış yeni (novel) varyantlar tespit edilmiştir.

Sonuç: Çalışmamız bu alanda yapılan ilk yeni nesil dizileme çalışması olması açısından özgündür ve bulgularımız literatüre önemli katkılar sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Allerjik Astım, Fcer2, IgE, Omalizumab, Slc9a3, Tüm Ekzom Dizileme

INVESTIGATION OF GENES ASSOCIATED WITH IGE RECEPTOR INHIBITION IN PATIENTS RESISTANT TO OMALIZUMAB TREATMENT

ABSTRACT

Aim: The aim of this study was to determine the roles of IgE, its receptors, and related genes in the resistance mechanism in patients resistant to omalizumab, a monoclonal antibody used in the treatment of severe asthma.

Materials and Methods: Our study included volunteers from patients diagnosed with severe allergic asthma who had used omalizumab in addition to standard bronchodilator therapy for at least 16 weeks. The volunteers were divided into two groups. The first group consisted of patients who achieved clinical and symptomatic improvement with omalizumab treatment and whose disease was under control. The second group consisted of patients who did not show sufficient clinical or symptomatic improvement despite omalizumab treatment and who did not benefit from treatment. DNA isolation and whole exome sequencing analysis were performed from peripheral blood samples to identify variants that may be associated with resistance to omalizumab.

Results: A total of 836 GB of data were obtained based on the whole exome sequencing analysis results. As a result of genomic evaluation, pathogenic, likely pathogenic and benign variants of the patients were detected. In the omalizumab-resistant group, homozygous mutations were detected in IGHE (rs rs61984224, rs61984222), IGHG2 (rs11626188), C3 (rs11085194), DOCK8 (rs10217719), SLC9A3 (rs2303736); heterozygous mutations were detected in FCER2 (rs2287867, rs2287868, rs55828544), IL4R (rs1801275), IL1RL1 (rs1041973); allelically significant variants were DOCK8 (rs10217568, rs10758598, rs1329377, rs145010074), FCER2 (rs11672993), IL4R (rs3024570, rs3024544, rs3024536), IL1RL1 (rs12999542); variants detected only in the treatment-unresponsive group were IL4R (rs1805015, rs3024676, rs1805016, rs2234924, rs1805013, rs2234898, rs2234900, rs1805011), FCER1G (rs11590967). In addition, new (novel) variants that have not been previously identified in the databases were detected in the FCER2, FCGR2B, GATA2, WDPCP genes.

Conclusion: Our study is unique in that it is the first next-generation sequencing study in this field and offers significant contributions to the research literature.

Key Words: Allergic Asthma, Fcer2, IgE, Omalizumab, Slc9a3, Whole Exome Sequencing

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Astım dünya çapında 300 milyondan fazla insanı etkileyen heterojen bir akciğer hastalığıdır. Astım, alerjenler gibi birçok çevresel tetikleyiciye abartılı bir hava yolu daralması tepkisi nedeniyle epizodik ve geri dönüşümlü bronkokonstriksiyona yol açan, değişken hava akımı obstrüksiyonu ve hava yolu aşırı duyarlılığı ile karakterizedir. Allerjik astım da esas olarak anormal T yardımcı tip 2 (Th2) iltihabına atfedilen hava yollarının kronik iltihabı söz konusudur (1). Alerjik hastalıklar, bağışıklık sisteminin ev tozu akarları, evcil hayvan kepeği, polen veya küf gibi normalde tehlikeli olmayan çevresel maddelere aşırı tepki vermesi ile karakterize olan hastalık grubudur. Endüstriyel yaşamın artması ile birlikte alerjik hastalıkların görülme sıklığı da artmaktadır.

Allerjik hastalıkların ve dolayısıyla alerjik reaksiyonun merkezinde imünglobülin E (IgE) antikorları vardır. IgE antikorları mast hücreleri ve bazofiller üzerinde bulunan yüksek afiniteli reseptörlere (FceRI) bağlanarak bu hücreleri alerjenlere yanıt vermeleri için hassaslaştırır. İkinci bir IgE reseptörü olan FceRII (CD23) ise B lenfositleri ve immün sistemin diğer bir çok hücresinde eksprese edilir. Allerjik reaksiyonda B hücreleri IgE aracılı antijen sunumunda ve IgE antikorlarının üretiminde feedback düzenlemesinde rol oynar. FceRI, bir α-zinciri ve iki γ-zinciri ile bir trimer olarak veya ek bir β-zinciri ile bir tetramer olarak ifade edilir (2). IgE-Fc bölgesi üç alan içerir (Cε2–4). Üç alan da IgE reseptörü bağlanmasını etkiler, ancak Cε3-4 fragmanı bağımsız olarak FceRI ve FceRII 'yi bağlar (3). IgE, alerjik yanıttaki merkezi rolü nedeniyle tedavi geliştirme için bir hedef olmuştur. Bir Anti-IgE monoklonal antikoru olan omalizumab öncelikle serbest serum IgE'sini bağlar ve nötralize eder. Böylece mast hücreleri ve bazofiller dahil olmak üzere FceRI eksprese eden hücreler üzerindeki IgE'nin yüzey seviyelerini de azaltır. Bu alerjik efektör hücrelerde IgE yüzey seviyeleri düştükçe, alerjeni bağlama ve IgE'ye bağlı aktivasyona uğrama yetenekleri zayıflar. Omalizumab son 15 yıldır orta ila şiddetli persistan astım ve kronik idiyopatik ürtikerin tedavisi için endikedir (4,5). Tedavide güçlü klinik etkinlik göstermiş olmasına rağmen bazı hastalarda omalizumabın etki etmediği gözlenmiştir. Ancak omalizumab tedavisine direncin mekanizması henüz tespit edilememiştir. Magen ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada kronik ürtiker hastalarında omalizumab tedavisine dirençle ilişkili olarak obezite ile birlikte WBC , CRP ve C3 yüksekliği tespit edilmiştir (6). 470 hastayı içeren ve Omalizumab tedavisine yanıtın

değerlendirildiği bir kohort çalışmasında tedaviye cevap vermeyen 29 hasta ile tedaviye yanıt alınan hastalar arasındaki en belirgin farklılığın kan IgE ve D-dimer düzeyleri olduğu tespit edilmiştir. IgE ve D dimer düzey yüksekliği olan hastaların tedaviye iyi yanıt verdiği ileri sürülmüştür (7). Omalizumab tedavisine direnç mekanizması ile ilişkili olarak yapılan çalışmalar labaratuvar parametreleri ve fenotipik değişiklikler ile sınırlı kalmış, literatürde genom boyutunda bir çalışma tespit edilmemiştir. Bu sebeple çalışmamızdaki ana hedef, genomik datanın kullanımı ile her bir protein kodlayan genin değiştirilmesinin fenotipik sonuçlarını anlamak, ve bu genotip-fenotip bağlantısı ile şiddetli astımda patofizyolojiyi tam olarak açıklayabilmektir. Astım hastalığında, genom çapında ilişkilendirme çalışması, şu anda karmaşık hastalığı etkileyen genleri tanımlamak için tercih edilen bir yöntemdir. GABRIEL (Avrupa Topluluğunda Astımın Genetik ve Çevresel Nedenlerini Belirlemeye Yönelik Multidisipliner Bir Çalışma) Konsorsiyumu, 17q21 kromozomu üzerindeki çoklu belirteçlerin çocuklukta başlayan astımla güçlü ve tekrarlanabilir bir şekilde ilişkili olduğunu gösteren, nispeten küçük bir genom çapında ilişkilendirme çalışması yürütmüştür (8). Genetik çalışmalar, hastalıkla ilişkili fenotiplerin hastalığa neden olup olmadığını veya hastalığın sonucu olup olmadığını belirleyebilir. Yapılan genom boyu ilişkilendirme çalışmalarında birçok lokusun astımla ilişkisi olduğu bildirilmiştir (9). Biz de bu çalışmamızda şiddetli astım hastalarında tüm ekzom dizilemesi yöntemini kullanarak genetik varyasyonların "Omalizumab" molekülüne direnç mekanizmasındaki rollerinin ortaya koymayı ve astım tedavisinde kişiselleştirilmiş tedavi metotlarının uygulanmasına katkı sunmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ASTIM

Astım, hırıltı, nefes darlığı, öksürük, göğüste sıkışma hissi gibi solunumsal semptomların farklı zamanlarda farklı yoğunluklarda yaşandığı, kronik, inflamatuar bir hava yolu hastalığıdır. Hastalarda özellikle ekspiratuar hava akımında kısıtlanma ve hava yolu aşırı duyarlılığı mevcuttur. Semptomlardaki ve hava akımındaki kısıtlanma zamanla değişkenlik gösterebilir, kalıcı hale gelebilir. Semptomlar bazı hastalarda aylarca hiç görülmeyebilirken bazı hastalarda yıl boyu devam edebilir, hatta yaşamı tehdit eden şiddetli astım alevlenmeleri yaşanabilir (10).

2.1.1. Astım Epidemiyolojisi ve Risk Faktörleri

Astım dünya üzerinde yaklaşık 300 milyon insanı etkileyen küresel bir sağlık sorunudur. Farklı ülkelerde nüfusun %1-29'unu etkilediği bildirilmiştir (11). Çoğu düşük ve orta gelirli ülkelerde olmak üzere günde yaklaşık 1000 insanın ölümüne neden olmaktadır. Astım hastalığı bebeklik çağından yaşlılığa kadar hayatın her döneminde ortaya çıkabilir, her yaştan insanı etkileyebilir. Astımın yaygınlığı ve şiddeti genetik ve epigenetik özelliklerin birlikte harmanlandığı karmaşık bir ilişkiye bağlıdır.

Risk faktörlerinden en önemlisi şüphesiz atopidir. Atopi çevresel alerjenlere yanıt olarak immün sistemin spesifik IgE üretme eğilimi olarak açıklanabilir. Atopiyi belirlemede kişinin genetik eğilimleri kadar çevresel maruziyetler de etkilidir (12). Astım hastalığı için tanımlanmış diğer bir risk faktörü ise prematüreliktir. 36 haftadan önce doğan çocuklarda ergenlik ve yetişkinlik dönemlerinde astım gelişme riski artmıştır (13). Hamilelikte annenin sigara kullanması veya pasif sigara dumanı maruziyeti bebeğin akciğer fonksiyonlarının zayıflamasına ve çocukluk çağı astımına neden olmaktadır (14). Çocukluk çağında geçirilen solunum sinsitiyal virüsü ve insan rinovirüsü enfeksiyonlarının astım riskini arttırdığı bilinmektedir. Bunların dışında obezite, erken ergenlik, iç mekân ısıtıcısı olarak gazla çalışan cihazların kullanıldığı ortamlarda bulunmak çocuklarda astım riskini artıran faktörler arasında sayılabilir (12). Yetişkinlik çağı astımı için en önemli risk faktörleri olarak sigara kullanımı, pasif sigara dumanı

maruziyeti, mesleki maruziyetler ve atopik bir bünyeye sahip olunması, nonsteroid anti inflamatuar ilaçlar, fiziksel aktivite ve egzersiz, duygusal stres gibi durumlar sayılabilir.

Astım hastalığı birden fazla gen tarafından düzenlenir. Poligenik kalıtım biçimleri veya lokus heterojenitesi gibi mekanizmalar astımın ortaya çıkmasını kolaylaştırır. Genom çapında ilişkilendirme çalışmaları çocukluk çağında başlayan astımın ORM1 benzeri protein 3 ve gasdermin benzeri proteini kodlayan genler ile ilişkili olabileceğini belirtmektedir (15). Bunların dışında IF-indüklenebilir protein X (PYHIN1) geni, interlökin-33 (IL33), IL-6 reseptörü (IL6R), IL-1 reseptör benzeri 1 (IL1R1) genleri, toll benzeri reseptör 1 (TLR1), timik stromal lenfopoietin (TSLP) için bir duyarlılık lokusu, HLA-DQB1 antisens RNA 1 (HLA-DQB1), majör histokompatibilite kompleksi sınıf II DQ α1 (HLA-DQA1), zona pellucida bağlayıcı protein 2 (ZPBP2) ve gasdermin A (GSDMA) lokuslarının da astım etyolojisinde rol oynadığı tespit edilmiştir (16,17)

2.1.2. Astım Patogenezi

Astımda ana mekanizma hava yollarının inflamasyonudur. Hastalığın klinik tablosu alevlenmeler ve remisyonlarla seyretse de hava yolu inflamasyonu süreklilik göstermektedir. İnflamasyonda rol alan temel hücreler T lenfositler, eozinofiller, mast hücreleri ve bazofillerdir. Bunların dışında solunum yolu epiteli, endotel ve düz kas hücreleri de hava yolu yeniden şekillenmesine ve inflamasyona katkıda bulunur (18). Hava yolu inflamasyonu bütün hava yollarını etkiler ancak öncelikle orta boy bronşlarda etkisi görülür. İnflamasyonun şiddeti arttıkça ve kronikleştikçe büyük ve küçük hava yollarının da etkilendiği görülür. Astım hastalığında hava yolu daralmasının geri dönüşümlü olduğu tespit edilmiştir ancak kronik inflamasyonun bir sonucu olarak özellikle şiddetli astımda hava yolu darlığı geri dönüşümsüz olabilir (19).

Solunum yolunu döşeyen epitel hücreleri sadece fiziksel bir bariyer değil, inflamatuar tepkileri düzenleyen immünolojik hücreler olarak da görev yaparlar. Bazı alerjenler ve kimyasallar epitel hücre hasarına yol açarak hücreler arası bağlantıların kaybına ve epitel hücre bariyer geçirgenliğinin bozulmasına sebep olur. Epitel hücre hasarı astımın tüm fenotiplerinde görülür ve hastalığın şiddeti ile yakından ilişkilidir (20). Epitel kaynaklı sitokinlerden özellikle IL-33, timik stromal lenfopoietin (TSLP) ve interlökin 25 (IL-25)'in alerjenlere yanıt olarak üretildiği ve eozinofilik astımda Th2 yanıtının oluşmasında rolü olduğu düşünülmüştür (21). IL33 sitokininin astımlı hastalardan alınan bronkoalveolar lavajda ve bronşial epitel hücrelerinde arttığı tespit

edilmiş ve hastalığın şiddeti ile doğru orantılı bulunmuştur (22). IL25 artışı kanda ve hava yollarında eozinofil yüksekliği, hava yolu aşırı duyarlılığında artış, serum IgE yüksekliği ve bronş duvarında subepitelyal tabakada kalınlaşma ile ilişkili bulunmuştur (23). TSLP sitokinin de Th2 ile ilişkili olduğu ayrıca nötrofilik inflamasyonda ve steroid direnci olan hastalarda bronş lavajında ekspresyonunun arttığı tespit edilmiştir (24).

Dendritik hücreler (DC) akciğer dokusunda yüksek afiniteli IgE reseptörü olan FcεRI'yi eksprese eder. İkinci olarak kemokinler üreterek Th2 hücrelerinin ve eozinofillerin akciğerlere göç etmesini sağlar. Astımlı hastaların hava yollarında DC sayısının arttığı görülmüştür. Bu durum dentritik hücrelerin alerjik astım patogenezinde etkili olabileceğini göstermiştir (25,26). Ovalbumin kaynaklı modellerle yapılan çalışmalarda İnterlökin 4 (IL-4)'ün IL-4Ra ile etki ederek bronşiyal aşırı duyarlılığı teşvik ettiği, B hücresi aracılı immünoglobulin sınıf değişimini indüklediği, ICAM-1 ve VCAM1 gibi yapışma moleküllerinin ekspresyonunu artırarak eozinofillerin ve diğer inflamatuar hücrelerin akciğerlere göçünü sağladığı gösterilmiştir (27). IL9, alerjik astımlı hastalarda nötrofiller, eozinofiller ve Th2 hücreleri başta olmak üzere birçok hücre tarafından üretilir. Astımlı hastaların bronş lavajında IL9 ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir ancak astım patogenezindeki işlevi tam olarak aydınlatılamamıştır (28).

Eozinofiller astımlı hastalarda Th2 hücreleri tarafından salgılanan interlökin 5 (IL5) etkisi ile aktive edilerek kan dolaşımından akciğer dokusuna göç ederler. Aktive edilmiş eozinofiller sitokinler, sitotoksik proteinler, kemokinler, lipid mediatörleri gibi çok sayıda faktör aracılığı ile akciğerde etki gösterirler ve kalıcı hava yolu iltihabı, akciğer yapısal hücrelerinin hasarlanması, goblet hücre metaplazisi, bronş düz kaslarında kalınlaşma ve hava yolu remodellinginde bozulmalar görülür (29, 30).

Allerjik astımda alevlenme iki evreden oluşur; erken evre ve geç evre. Erken evrede rol alan ana molekül IgE’ dir. IgE, mast hücrelerine ve bazofillere bağlanarak bir dizi sitokinin salgılatır. IgE uyarısı ile mast hücre granüllerinden histamin, prostaglandin D2 (PGD2) ve sisteinil lökotrienler C4 (LTC4), D4 (LTD4) ve E4 (LTE4) salınımı gerçekleşir. Bu sitokinler bronş düz kaslarının kasılmasını ve hava yollarının daralmasını sağlar (31). Th2 hücreleri IgE ve eozinofilik hücreleri desteklemek üzere IL4, IL5 ve IL13 salgılar. IL4 ve IL5 eozinofillerin ve bazofillerin hayatta kalmasına yardımcı olurken IL13 hava yolu epitel hücrelerinin yeniden şekillenmesi, hiperplazisi ve fibrozisinde rol oynar (32). Geç evrede ise T lenfositler, bazofiller, eozinofiller gibi

inflamatuar hücrelerin dokuya göçü sonrası gecikmiş bronkokonstrüksiyon ortaya çıkar. Hem erken faz hem de geç faz reaksiyonlara bağlı inflamasyon ve bronkokonstrüksiyon sonrası hava akışının bozulduğu ve solunum iş yükünün arttığı görülür.

Alerjik olmayan astım genellikle geç başlangıçlıdır. Obezlerde ve kadınlarda daha sık görülür (33). Geç başlangıçlı astımda iki farklı mekanizma etkilidir. Th2 aracılı astım ve Th2 aracılı olmayan astım. Th2 aracılı olmayan astımda genellikle sigara kullanımı, obezite, yaşlanma gibi faktörlerin etkili olduğu görülmüştür. Th2 aracılı astımda ise hastalarda çoğunlukla kronik rinit, sinüzit, aspirin duyarlılığı gibi komorbiditeler eşlik etmektedir. Bu tür astımda hava yollarında eozinofil hakimiyeti tespit edilmiştir (34)

2.1.3. Astımda Tanı

Astım hastalığında kesin tanı koydurucu ve diğer kronik solunum yolu hastalıklarından ayırt ettirici objektif bir kriter yoktur. Hastalık semptomlarının geniş bir yelpazeye yayılmış olması, hastalığa yol açan etkenlerin çeşitliliği ve bu özelliklerin kişiler arasında farklılık göstermesi astım tanısını güçleştirmektedir.

2.1.3.1. Şikayetler: Astım hastalığında ortaya çıkan başlıca yakınmalar nefes darlığı, hırıltı, hışıltı, göğüste sıkışma hissi, öksürük, balgam, burun tıkanıklığı olarak sıralanabilir. Şikayetlerin ataklar halinde olması, geceleri artış göstermesi, tetikleyici faktörlerle temas sonrası ortaya çıkması, semptomların bazen kendiliğinden bazen de ilaçlar ile tamamen düzeliyor olması astım tanısını düşündüren en belirgin özelliklerdir (10).

2.1.3.2. Fizik muayene: Astımlı hastalarda solunum yolu fizik muayenesinde en sık karşılaşılacak bulgu hışıltılı solunum, ekspiryum uzaması ve ronküslerdir. Bunun dışında ciltte ürtiker, üst solunum yolarında sinüzit bulguları ve polipler gözlenebilir. Astımlı hastalarda ataklar arası dönemlerde fizik muayene bulguları tamamen normal olabilir (10).

2.1.3.3. Solunum fonksiyon testleri:

2.1.3.3.a. Spirometre: Kliniklerde en yaygın kullanılan solunum fonksiyon değerlendirmesi yöntemidir. Spirometrik ölçümlerde FEV1, FVC, FEV1/FVC, FEF25-75 sonuçlarına bakılarak solunumsal bozukluğun obstrüktif, restriktif veya miks tipte olup olmadığına karar verilir. Kısa etkili bronkodilatör inhalasyonu sonrası tedavi öncesi

ölçümlere kıyasla FEV1 ve FVC değerlerinde %20 artış olması reversibilite pozitifliği olarak yorumlanır ve astım tanısını destekler (35).

Spirometrik testte akciğerlerin hacim ve kapasiteleri ile ilgili olarak Tablo 2.1'deki hacimler ölçülür ve testi yapan hastanın yaş, boy, kilo ve ırksal özellikleri elde edilen referans değerler ile karşılaştırılarak yüzdelik değerler belirlenir.

Tablo 2.1: Spirometre ile ölçülebilen akciğer hacim ve kapasiteleri

Test	**Ölçülen değerin Tanımı**	**Normal %**
FVC	Zorlu vital kapasite	>80
FEV1	Zorlu ekspiryumun 1. saniyesinde çıkarılan hava hacmi	>80
FEV1/FVC		>80
FEF 25-75	Zorlu ekspirasyonun ortasındaki akım hızı	>70
PEF-R	Zirve ekspiratuar akım hızı	>80

2.1.3.3.b. PEF ölçümü: Pik ekspiratuvar akım (PEF) ölçümü, astımlı hastaların yönetiminde kullanılan bir yöntemdir. PEF metre adı verilen manuel cihazlar kullanılarak ölçülen PEF değeri, astım kontrolünü tespit etmede ve tedaviyi düzenlemede yol göstericidir. Hastaların kendi kendilerine sabah ve akşam PEF ölçümlerini yapmaları istenir. Sabah ve akşam ölçümleri arasında elde edilen farklılık "günlük değişkenlik (variabilite)" olarak adlandırılır. %20 ve üzerindeki değişiklikler astım lehine değerlendirilir.

2.1.3.3.c. Bronş provokasyon testleri: Solunum fonksiyon testleri normal olmasına rağmen astım olduğundan şüphe edilen hastalarda bronşial hiper reaktiviteyi göstermek amacıyla bronş provokasyon (BPT) testleri yapılabilir. (36).

2.1.3.4. Akciğer grafisi: Postero anterior akciğer grafisi astım ön tanısı ile değerlendirilen hastalarda tanıya katkı sağlamak için değil astım benzeri semptomlara yol açan diğer hastalıkları dışlamak için yapılır.

2.1.4. Astım Fenotipleri

Astım altta yatan etyolojiler ve hastalık süreçleri açısından değerlendirildiğinde heterojen bir hastalıktır. Demografik, patofizyolojik ve klinik özellikler değerlendirildiğinde farklı astım fenotipleri ortaya çıkmıştır ancak şiddetli astım olanlar hariç, fenotipler arasında tedaviye yanıt düzeyinde anlamlı farklılık tespit edilmemiştir (37,38).

2.1.4.1. Allerjik astım: Genellikle çocukluk çağında başlar, besin alerjisi, ciltte atopik reaksiyonlar, alerjik rinit gibi hastalıkların eşlik ettiği veya aile öyküsü vardır. Hava yollarında eozinofilik inflamasyon ön plandadır ve inhale kortikosteroid (ICS) tedavisine iyi yanıt alınır (39)

2.1.4.2. Allerjik olmayan astım: Hastalarda herhangi bir alerjik hastalık veya atopik reaksiyon öyküsü yoktur. Hava yollarındaki iltihap çoğunlukla nötrofil ağırlıklıdır. Hastalar ICS tedavisine yanıt kısıtlıdır.

2.1.4.3. Öksürük varyant astım: Bu fenotipte öksürük çoğu zaman tek semptom olabilir. ICS tedavisi ile semptomların kontrol altına alındığı gözlenir.

2.1.4.4. Erişkin (geç) başlangıçlı astım: Yetişkinlik döneminde ortaya çıkar, hastaların çoğunlukla kadın olduğu görülür, alerjik değildir. Bu fenotipte hastalar mesleksel maruziyetler (mesleksel astım) açısından değerlendirilmelidir, genellikle ICS ye direnç veya yüksek doz ICS ihtiyacı görülür (39)

2.1.4.5. Kalıcı hava akım kısıtlaması olan astım: Uzun süredir astım tanısı ile tedavi gören hastalarda bir süre sonra tedaviye yanıtsızlık ve irreversibl hava akım kısıtlaması gelişir. Bu hastaların hem astım hem de KOAH özelliklerine sahip olduğu görülür (39)

2.1.5. Astım Şiddetinin Değerlendirilmesi

Astım şiddetinin değerlendirilebilmesi için öncelikle “Astım kontrol altında mı?” sorusunun cevaplanması gereklidir. (Tablo 2.2)

Tablo 1.2: Astım kontrol testi

Sorular	Cevaplar	Puanlar	Toplam
Geçtiğimiz 4 hafta içinde, ne sıklıkla astımınız sizi işte, okulda ya da evde yaptıklarınızdan alıkoydu?	Her zaman	1	
	Çoğu zaman	2	
	Bazen	3	
	Seyrek olarak	4	
	Hiçbir zaman	5	
Geçtiğimiz 4 hafta boyunca ne sıklıkta nefes darlığınız oldu?	Her zaman	1	
	Çoğu zaman	2	
	Bazen	3	
	Seyrek olarak	4	
	Hiçbir zaman	5	
Geçtiğimiz 4 hafta boyunca astımınızın belirtileri (hırıltı, öksürük, nefes darlığı, göğüste sıkışma ya da ağrı) ne sıklıkta sizi gece uyandırdı ya da sabah her zamankinden önce kaldırdı?	Her zaman	1	
	Çoğu zaman	2	
	Bazen	3	
	Seyrek olarak	4	
	Hiçbir zaman	5	
Geçtiğimiz 4 hafta boyunca, acil nefes açıcı spreyinizi veya buhar makinesi ilacınızı ne sıklıkta kullandınız?	Her zaman	1	
	Çoğu zaman	2	
	Bazen	3	
	Seyrek olarak	4	
	Hiçbir zaman	5	
Geçtiğimiz 4 hafta boyunca astımınızın ne derecede kontrol altında olduğunu düşünüyorsunuz?	Her zaman	1	
	Çoğu zaman	2	
	Bazen	3	
	Seyrek olarak	4	
	Hiçbir zaman	5	

Astım kontrolünü değerlendirirken GINA, ERS, ATS gibi astım kılavuzları bazı ölçeklerden ve anketlerden yararlanılmasını tavsiye etmektedir. En sık kullanılan ölçek astım kontrol testi (ACT) dir. ACT son dört haftadaki semptomları puanlar. ACT den maximum 25 puan alınabilir, ≥20 ACT puanı kontrol altında olan hastalığı, <20 ACT puanı ise kontrol altında olmayan astımı gösterir (<16 ACT puanı ise zayıf kontrol altında hastalığı gösterir)(40) Astım kontrol testi sonucuna göre hastalığın kontrol altında olup olmadığına karar verilir ve buna göre hastanın ihtiyacı olan tedavi protokolü belirlenir. Hastanın semptomlarını ve alevlenmelerini kontrol etmek için gereken tedavi düzeyine göre hafif astım, orta dereceli astım, şiddetli astım olarak derecelendirilir.

2.1.6. Astım Tedavisi

Astım tedavisinin temel amacı hava yollarındaki inflamasyonu kontrol altına almaktır. Böylece semptom kontrolü sağlanır, bronş hiper reaktivitesi geriler ve solunum fonksiyonları düzelir. Semptom kontrolü ve solunum fonksiyonlarındaki iyileşme sebebi ile tedaviye ara verilirse relaps görülebilir. Bu nedenle astım tedavisinde semptom kontrolü sağlansa bile anti inflamatuar tedavinin devamı önerilmektedir (39). Astım tedavisinde semptom giderici, kontrol edici ve ek tedaviler olmak üzere üç grup ilaçtan söz etmek mümkündür.

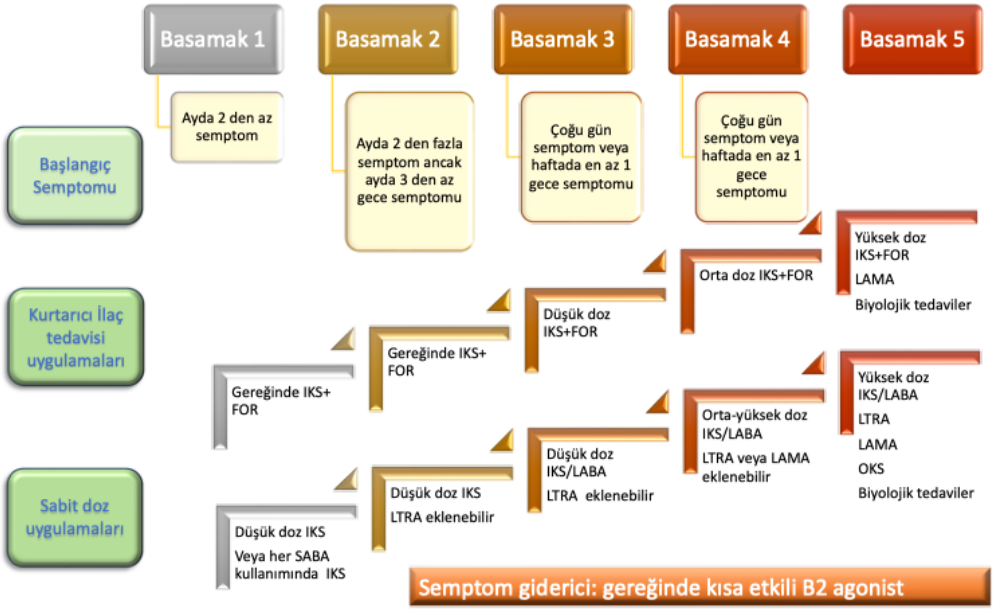
2.1.6.1. Semptom giderici ilaçlar (kurtarıcı ilaçlar): Sadece semptom olduğu zaman kullanılması önerilen, sürekli ve düzenli kullanımı önerilmeyen ilaçlardır. Kısa etkili beta mimetikler (SABA) bu gruptadır. En sık kullanılan moleküller salbutamol ve terbutalindir.

2.1.6.2. Kontrol edici ilaçlar: Hastanın semptomu olsun veya olmasın düzenli kullanılması önerilen ilaçlardır. İnhaler kortikosteroidler (ICS) ve ICS ile kombine edilmiş uzun etkili beta mimetik (ICS+LABA) ajanlar bu gruptandır. Budesonid, Flutikazon ICS olarak kullanılan başlıca moleküllerdir. Budesonid + Formoterol, Budesonid+ Beklametazon, Salmoterol+ Flutikazon… gibi ICS+LABA kombinasyonları mevcuttur.

2.1.6.3. Ek tedaviler: IKS+LABA kombinasyonunun düzenli kullanılmasına rağmen semptomların ve atakların kontrol altına alınamadığı hastalarda mevcut tedaviye eklenen ilaçlardır. Fenotipe özgü olarak şekillenen tedavi stratejileri mevcuttur. Uzun etkili muskarinik agonistler (LAMA), lökotrien reseptör antagonistleri (LTRA) ve biyolojik moleküller bu sınıfa dahil edilebilir. En sık kullanılan LAMA molekülleri tiotroprium ve glikopronyumdur. LTRA olarak en sık kullanılan molekül montelukast iken biyolojik tedavilerden omalizumab, mepolizumab, reslizumab, benralizumab sayılabilir (41).

Astımın kronik tedavisinde basamak tedavisi önerilmiştir. Hastanın 3 aylık takiplerinde semptom ve atakların değerlendirilmesi yapılarak hastalığın kontrol altında olup olmadığına karar verilir ve buna göre de tedavide doz artırılıp azaltılması veya ilaç ekleyip çıkarması suretiyle hastalığın kontrol altında tutulması hedeflenmektedir.

Basamak tedavisine ilişkin tedavi şeması Şekil 2.1 ile gösterilmiştir.



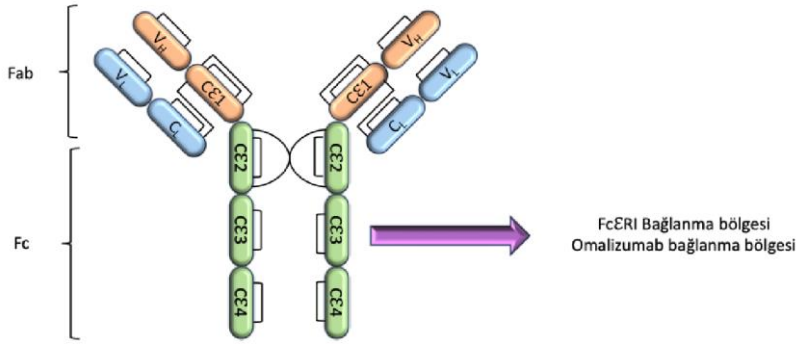
Şekil 2.1: Astımda basamak tedavisi şeması

2.2. IMMÜNGLOBÜLİN E VE FCε RESEPTÖRLERİ

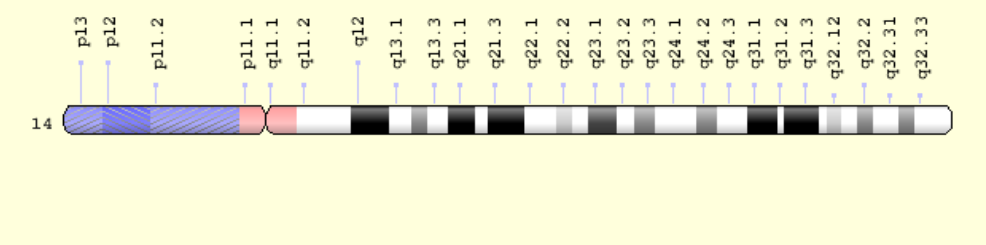
2.2.1. IgE

IgE ilk olarak 1968 yılında beşinci insan antikoru olarak tanımlanmıştır (42). IgE, tip I aşırı duyarlılık (alerjik) reaksiyonundaki rolüyle en sık tanınan insan antikorudur. Atopik bireylerde yaygın çevresel antijenlere (alerjenler) karşı T lenfositler ve plazma hücreleri tarafından üretilir. Hem IgE hem de mast hücreleri mukozal dokularda yoğunlaşmıştır ve bu nedenle IgE antikorları, istilacı bir patojenle karşılaştığında ilk savunma tepkisini veren moleküllerdir. Alerjenler tarafından mast hücre yüzeyindeki IgE-FcεRI kompleksinin çapraz bağlanması, dakikalar içinde alerjik reaksiyonun başlamasına ve mast hücresi degranülasyonuna ve lipit mediatörlerinin sentezine yol açar. Salınan sitokinler ve kemokinler, birkaç saat sonra zirveye ulaşan ve alerjene duyarlı bölgelerde inflamatuar hücrelerin toplanmasını ve aktivasyonunu başlatır (43). Bu reaksiyon en sık olarak solunum yolu, cilt, bağırsak ve gözlerde lokal alerjik semptomlara yol açar, ancak aynı zamanda sistemik, yaşamı tehdit eden bir bağışıklık reaksiyonu olan anafilaktik şoka da dönüşebilir (44).

IgE, iki özdeş ağır zincir ve iki özdeş hafif zincir yapısı diğer antikorlar ile temel olarak aynı moleküler özelliklere sahiptir. Ancak IgE nin ağır ε zinciri, diğer antikorlardan bir fazla alan içerir (Cε4). Cε3 ve Cε4 alan çifti, dizilim olarak homologdur ve kuarterner yapıdadır. IgE'nin en belirgin ayırt edici özelliği ise Cε2 alan çiftidir. Cε2 alanları da dahil olmak üzere tam IgE-Fc'nin kristal yapısı belirlendiğinde, molekülün beklenenden daha da keskin bir şekilde büküldüğü, Cε2 alanlarının geriye katlandığı ve Cε3 alanlarıyla yoğun temas kurduğu, hatta Cε4 alanlarına değdiği bulunmuştur. Bu genel kompakt yapı içinde IgE hem üçüncül (alan içi) hem de dördüncül (alanlar arası) yapıda önemli konformasyonel esneklik göstermektedir. IgE nin bu yapısal özelliği FcεRI ile bağlanmasını etkileyen temel özelliklerden biridir (45) (Şekil 2.2). İmmünoglobulin hafif zincirleri, 2p11 (j) ve 22q11 (k) kromozomunda kodlanırken; ağır zincir 14q32'de kodlanır (46,47) (Şekil 2.3)



Şekil 2.2: IgE molekülü



Şekil 2.3: 14. Kromozom; IgE ağır zincir kodlama bölgesi

IgE ekspresyonu için iki aşamalı somatik DNA yeniden düzenlemesi gereklidir. B hücresi gelişimi sırasındaki ilk yeniden düzenlemeye "V(D)J" rekombinasyonu denir. Bu rekombinasyon, geniş bir potansiyel antijen yelpazesine karşı antikor sentezlenmesine olanak tanır. İmmünoglobulin ağır zincirleri (IgH) için genler, farklı antijen bağlama bölgelerini kodlayan çok sayıda V (değişken), D (çeşitlilik) ve J (birleştirici) segmentlerinden oluşur (48). İmmünoglobulin hafif zincir genlerini (j ve k) kodlayan genler, çoklu V ve J segmentlerine sahiptir. Antijen aktivasyonunu ve uygun bir uyarımı takiben, olgun B hücreleri, yalnızca kromozomal IgH lokusunu içeren ve 'sınıf değiştirme rekombinasyonu' (CSR) veya basitçe 'sınıf değiştirme' olarak adlandırılan ikinci somatik yeniden düzenleme aşamasına geçer. V, D ve J segmentlerine ek olarak, insan IgH kromozomal lokusu C bölgesini kodlayan birkaç alternatif segmente daha sahiptir (Cα1, Cα2, Cγ1, Cγ2, Cγ3, Cγ4 ve Cε). Bu durum CSR üzerine farklı işlevsel sınıflara ait antikorların (IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 ve IgE) üretilmesini sağlar (49,50). IgE'ye karşı CSR sıkı kontrol altındadır. İlk sinyal, paylaşılan yol bileşenleri aracılığıyla etki eden interlökin-4 (IL4) ve interlökin-13 (IL13) tarafından sağlanır. IL4 reseptörleri hem IL4 hem de IL13 tarafından aktive edilebilir (51). IL4 reseptör tipinin uyarılması diğer sitokin reseptörleri gibi JAK/STAT adı verilen sinyal yolağını kullanır. Janus kinazlarının (JAK) aktivasyonu ile sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatör Faktörü 6'nın (STAT6) fosforilasyonu, dimerizasyonu ve nükleer göçü sağlanır. Aktive olan STAT6 çekirdekte doğrudan transkripsiyonu başlatır (52). CSR için ikinci sinyal, B hücresi yüzeyindeki CD40 ve onun ligandı CD40L arasındaki etkileşim tarafından sağlanır. Aktive olan CD40, tümör nekroz faktörü reseptörü ile ilişkili faktörleri (TRAF) toplayarak nükleer faktör-κB (NF-κB), STAT6 ve NF-κB'nin Iε bölgesinin hemen yukarısında bulunan ε germ hattı gen promotöründeki ilgili duyarlı DNA elemanları ile etkileşime girmesini sağlar. Bu, ε germ hattı gen transkripsiyonuna ve ardından "steril" bir transkript ile ekleme işlemine yol açar (53). İnsan ε germ hattı gen promotörünün pozitif düzenlenmesinde rol oynayan ek transkripsiyon faktörleri, CCAAT/güçlendirici bağlayıcı protein (C/EBP), SPI1 ve B hücresine özgü aktivatör proteindir (PAX5) (54).

İnsan IgE'sinin plazma yarı ömrü 2,5 gündür. Bu süre diğer immünoglobulin sınıfları ile karşılaştırıldığında çok kısadır. IgE sentezinin sadece lenf nodlarının germinal merkezlerinde değil aynı zamanda lokal mukozal dokularda da gerçekleşebileceğine dair kanıtlar vardır (55). IgE nin iki reseptörü vardır. Yüksek afiniteli IgE reseptörü FcεRI ve düşük afiniteli IgE reseptörü CD23.

2.2.2. FcεRI

FcεRI esas olarak mast hücreleri, bazofiller, dendritik hücreler, Langerhans hücreleri ve monositlerin yüzeyinde ifade edilir. Bu hücrelerde, FcεRI heterotetramerik bir forma sahiptir. Bir α alt birimi (FcεRIα), bir β alt birimi (FcεRIβ) ve iki γ zincirinden (FcεRIγ) oluşur. Bunlardan yalnızca FcεRIα IgE reseptörüne özgüdür, buna karşın FcεRIβ ve FcεRIγ diğer Fc reseptörlerinin de bir parçasıdır (56) (Şekil 2.4)

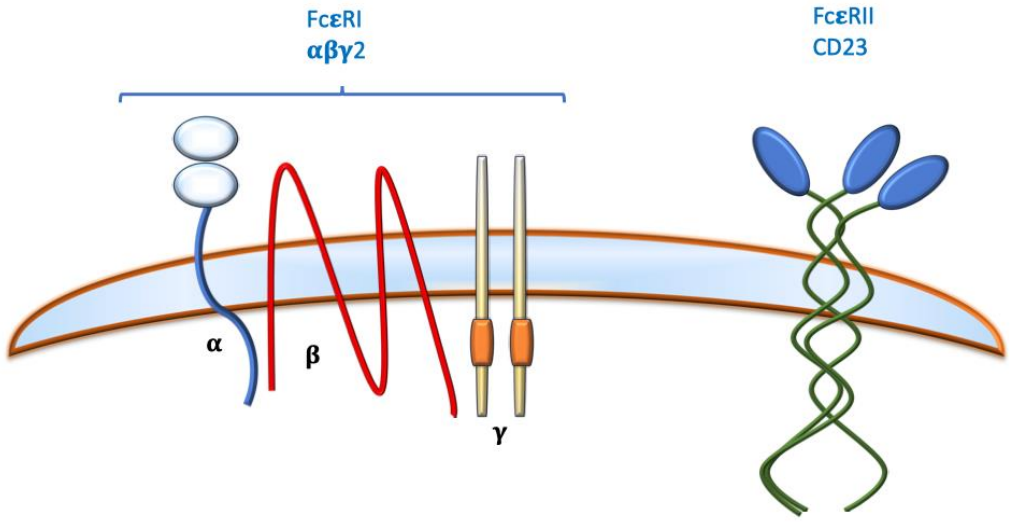
FcεRIα, immünoglobulin süper ailesinin bir üyesidir ve iki hücre dışı immünoglobulin benzeri alan, hidrofobik bir transmembran bölge ve kısa bir sitoplazmik kuyruktan oluşur(57). FcεRIα 'yı kodlayan gen olan FCER1A geni kromozom 1q23'te yer almaktadır. Bu nedenle, FCER1A gen ifadesi iki farklı promotör bölgesi tarafından kontrol edilir. (58,59) Mast hücrelerinde, normal koşullar altında, FCER1A gen transkripsiyonu proksimal promotör tarafından düzenlenir, ancak eozinofillerde ve monositlerde FcεRI ifadesi IL-4 tarafından güçlendirilir ve FCER1A gen transkripsiyonu proksimal promotör tarafından değil, distal promotör tarafından aracılık edildiği görülmektedir (60,61). FCER1A gen promotör aktivitesi nedeniyle alerjik hastalarda artan FcεRIα ekspresyonu çekici bir terapötik hedef oluşturmaktadır.

FcεRIβ dört transmembran bölge ve iki sitoplazmik kuyruğa sahiptir. FcεRIγ bir transmembran bölge ve bir sitoplazmik kuyruktan oluşur. FcεRIβ ve FcεRIγ her ikisi de bir immünoreseptör tirozin bazlı aktivatör motifi (ITAM) içerir (62,63). FcεRIβ değişkenliği üzerine yapılan genetik ilişki çalışmaları, daha önce alerjiyle ilişkili bozukluklar veya bronşiyal hiper reaktivite gibi atopik ölçümlerle ilişkilendirilen 11q13,3-5 lokustaki genin klonlanmasıyla canlandırılmıştır. Çalışmalar FCER1B gen polimorfik varyantları ile alerjik bozukluklar arasındaki ilişkiyle ilgilenmiş, FCER1B geninin varyantları astım, atopi, bronşiyal hiper reaktivite, serum IgE seviyeleri ve atopik dermatit ile ilişkilendirilmiştir (62)

2.2.3. FcεRII

FcεRII, immünoglobulin süper ailesine ait hemen hemen tüm diğer Fc reseptörlerinden yapı olarak önemli ölçüde farklıdır. Tip II transmembran protein FcεRII yalnızca CD23 polipeptitinden oluşur(46) (Şekil 2.4). CD23 polipeptidini kodlayan gen FCER2'dir. FCER2 N-terminal sitoplazmik kuyruğu CD23 polipeptidinin sentezine yol açan mRNA varyantlarının sentezini yönlendiren iki alternatif transkripsiyon

başlangıç bölgesine sahiptir. CD23a yalnızca B hücreleri tarafından yapısal bir şekilde ifade edilirken, CD23b monositler/makrofajlar, B hücreleri, T hücreleri, eozinofiller, DC'ler ve epitel hücrelerinin yüzeyindeki IL-4 tarafından indüklenebilir. Çeşitli CD23 formlarının B hücresi yüzeyindeki ligandları CD21 ve IgE ile etkileşimleri, insanlarda IgE homeostazının temelini oluşturur. Membranla bağlı CD23 ve IgE'nin bir alerjen-serum IgE kompleksi tarafından çapraz bağlanması, IgE sentezinin baskılanmasına neden olurken IgE ve CD21'in trimerik CD23 tarafından çapraz bağlanması, artmış IgE üretimine yol açar (64)

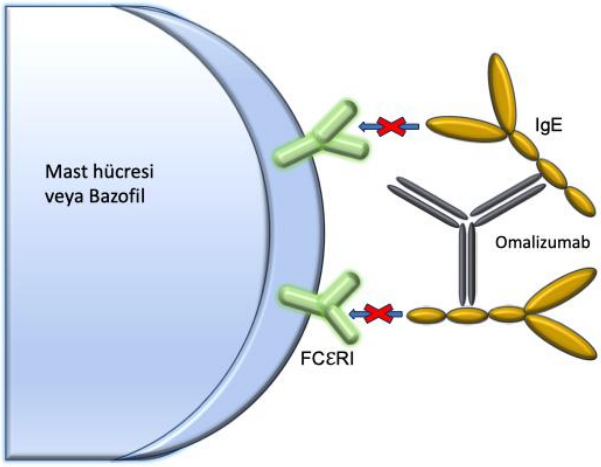


Şekil 2.4: IgE hücre yüzey reseptörleri: FcεRI ve FcεRII

2.3 OMALİZUMAB

Omalizumab, spesifik olarak insan immünoglobulin E'yi (IgE) hedef alan rekombinant bir humanize IgG1 monoklonal antikorudur (65). Omalizumab, IgE'nin Fc bölgesinin C-epsilon-3 (C3) lokusuna seçici bağlanarak etkisini gösterir. Bu bölge IgE'nin yüksek afiniteli reseptörü olan Fc-epsilon-RI (FceRI) 'ye bağlandığı bölgedir. Omalizumab bağlanması sonrası serumda bulunan serbest IgE düzeylerinin düştüğü görülür. Böylece IgE'nin eozinofiller, bazofiller ve mast hücrelerinin yüzeyinde bulunan FceRI ile etkileşime girmesi ve IgE aracılı alerjik reaksiyon kaskadının başlaması

engellenmiş olur. IgE azalması ile birlikte zamanla inflamatuar hücrelerde FceR ekspresyonu da azalır (66) (Şekil 2.5)



Şekil 2.5: Omalizumab IgE bağlanması

Omalizumab, orta ila şiddetli alerjik astımın tedavisi için 2003 yılında ABD Gıda ve İlaç Dairesi'nden (FDA) ve 2005 yılında Avrupa İlaç Ajansı'ndan (EMA) onaylanmış ilk biyolojik molekülüdür (67). Omalizumabın kullanıma girmesinden sonraki 22 yıllık sürede yapılan randomize kontrollü çalışmalar ve gerçek yaşam verileri göstermiştir ki Omalizumab tedavisi, astım alevlenmelerinde %25-61 oranında göreceli risk azalması, hastalıkla ilişkili yaşam kalitesinde ve solunum fonsksiyon testlerinde iyileşme ve ICS dozunun da azaltılmasını sağlamış, hastane yatışını ve acil başvurusunu azalttığını göstermiştir (68,69). Molekülün şiddetli astımda onaylanması ve rutin kullanımını takiben 2014 yılında ABD ve Avrupa'da kronik idiyopatik veya kendiliğinden oluşan ürtiker hastalarının kullanım için de onaylanmıştır (70).

2.3.1. Endikasyonlar

Omalizumab molekülünün astım hastalarında kullanımı için endikasyonlar şu şekilde belirlenmiştir:

- 6 yaş ve üzeri şiddetli persistan astımı tanısı olması,
- ICS+LABA+ SABA ile yeterli semptom kontrolü sağlanamamış olması,

- Persistan alerjenlere karşı deri prick testi veya serum spesifik antikor pozitifliği,
- Toplam serum IgE düzeyinin 30- 700 IU/mL (Amerika'da), 30- 1500 IU/mL (Avrupa'da) aralığında olması,

Omalizumab molekülünün dozajı ve uygulama sıklığı hastaların tedaviye başlamadan önce ölçülen serum toplam IgE düzeyine (IU/mL) ve vücut ağırlığına (lb veya kg) göre belirlenir (Tablo 2.3).

Tablo 2.3: Omalizumab dozaj tablosu

Tedavi öncesi serum total IgE (IU/ml)	Doz uygulama Sıklığı	VÜCUT AĞIRLIĞI (kg) DOZ						
		30-40	40-50	50-60	60-70	70-80	80-90	90-125	125-150
30-100	Her 4 haftada bir uygulama	75	150	150	150	150	150	300	300
100-200		150	300	300	300	300	300	450	600
200-300		225	300	300	450	450	450	600	375
300-400		300	450	450	450	600	600	450	525
400-500		450	450	600	600	375	375	525	600
500-600		450	600	600	375	450	450	600	Doz önermek için yeterli veri yok
600-700		450	600	375	450	450	525		
700-800		300	375	450	450	525	600		
800-900	Her 2 haftada bir uygulama	300	375	450	525	600			
900-1000		375	450	525	600				
1000-1100		375	450	600					
1100-1200		450	525	600					
1200-1300		450	525						
1300-1500		525	600						

2.3.2. Farmakokinetik ve Pozoloji

Omalizumab molekülü deri altına (subkutan) enjeksiyon şeklinde uygulanan parenteral bir moleküldür. Omalizumabın emilimi ve dolaşımda zirve konsantrasyona ulaşması 7-8 gün sürmektedir. Ortalama yarı ömrü 24-26 gündür, rediküloendotelyal sistemde ve endotel hücrelerinde metabolize edilir ve safra yolu ile atılır (66)

Omalizumab molekülü 75 ve 150 mg/0,5 mL tek dozluk solüsyon olarak önceden doldurulmuş şırıngalarda veya 150 mg tek dozluk flakonlarda yeniden sulandırılabilir liyofilize toz şeklinde bulunmaktadır. Etkinliğin değerlendirilebilmesi için en az 16 haftalık düzenli uygulama önerilir (71).

2.3.3. Yan Etkiler

Enjeksiyon bölgesi reaksiyonları, alerjik reaksiyonlar, anafilaksi, malignite üzerindeki olası etkiler, parazit hastalığı riski ve serum hastalığı ve Churg-Strauss vasküliti dahil olmak üzere immünolojik etkilerden söz edilmektedir (72)

-Kontrendikasyonlar: Omalizumaba karşı aşırı duyarlılık reaksiyonu ve anafilaksi gelişmesi durumunda kullanılması kontrendikedir (73)

Anti-IgE tedavisi şiddetli astım hastaları için yüz güldürücü bir tedavi seçeneği olmasına rağmen uygulanan tüm hastalar için beklenen etkiyi gösterememiştir. Gerçekten de omalizumab ile tedavi edilen çocukların ve yetişkinlerin yalnızca yaklaşık %70'i tedaviye iyi yanıt göstermektedir (74). Hangi hastaların hangi tedavi ile en iyi şekilde tedavi edileceğine karar vermek zorlu bir görev olmaya devam etmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. ÇALIŞMA DİZAYNI

Çalışma öncesi Biruni Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alındı (Karar no/Tarih: 2015- KAEK-78-23-17 / 12.07.2023) (Ek-1) Örneklem büyüklüğü G-Power programı ile yapılan güç analizi sonucunda> %80 olarak belirlenmiştir Gönüllülerden "gönüllü olur formu" alınmıştır (Ek-2).

Çalışmaya Sağlık Bilimleri Üniversitesi (SBÜ) Derince Eğitim Araştırma Hastanesi Göğüs hastalıkları kliniğinde takipli şiddetli alerjik astım tanısı almış, standart bronkodilatör tedavi yanında Omalizumab tedavisini en az 16 hafta kullanmış olan hastalardan dahil edilme kriterlerine uyan 40 gönüllü alındı. Gönüllüler 2 gruba ayrıldı. Birinci grup omalizumab tedavisini en az 16 hafta kullanmış ve tedavi ile klinik ve semptomatik iyileşme sağlanmış, hastalığı kontrol altına alınmış olan 20 hastadan oluşuyordu. İkinci grup ise omalizumab tedavisini en az 16 hafta süre ile düzenli kullanmış ancak yeterli klinik, semptomatik iyileşme hali tespit edilmemiş ve astım kontrolü sağlanamamış, tedaviden fayda görmeyen 20 hastadan oluşturuldu. Katılımcıların demografik özellikleri, radyolojik ve biyokimyasal bulguları çalışmada kullanılmak üzere kayıt altına alındı. Gönüllülerden alınan periferik kan örneklerinden kit protokolüne göre DNA izolasyonu ve spektrofotometrik ölçüm yapıldı. Elde edilen DNA örneklerinden tüm ekzom dizileme yapılarak IgE ile ilişkili olabilecek genlerin analizi gerçekleştirildikten sonra istatistiksel değerlendirmeler yapıldı.

3.1.1. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

1. 18-65 yaş arası olması,
2. Şiddetli astım tanısı almış olmak ve GINA 2022 tedavi protokolüne göre standart astım tedavisinin yanı sıra anti IgE (Omalizumab) tedavisini en az 16 hafta kullanmış olması,
3. Serum Total IgE seviyesinin 30-1500 UI/ml olması ve alerjik ya da eozinofilik biyobelirteçleri pozitif olması.

4. Eşlik eden başka herhangi bir metabolik, otoimmün, kanser, kalıtsal, eozinofilik ve paraziter bir hastalığı olmaması,
5. Çalışmaya katılmaya gönüllü olduğuna dair yazılı onam vermek.

3.1.2. Çalışmaya Alınmama Kriterleri

1. <18 yaş ve> 65 yaş olması,
2. Serum Total IgE seviyesinin> 1500 UI/ml olması,
3. Gebelik durumu,
4. Eşlik eden kalıtımsal, paraziter, metabolik, otoimmün, kanser vb. başka bir hastalığa sahip olması,
5. Çalışmaya katıldığına dair yazılı onam vermemesi,

3.2. GÖNÜLLÜLERDEN KAN ÖRNEKLERİNİN ALINMASI

Katılımcılardan rutin izlem sırasında 2 ml EDTA'lı periferik kan örneği alınmış, soğuk zincir şartlarına uygun olarak Sağlık Bilimleri Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'na nakledilmiştir. Numuneler, ileri prosesler gerçekleştirilene kadar anabilim dalı bünyesinde bulunan +4 ^{0}C buz dolabında muhafaza edilmiştir. Bireylerin klinik verileri, laboratuvar değerlendirmeleri ve radyolojik verileri kayıt altına alınmıştır.

3.3. DNA ÖRNEKLERİNİN ELDESİ VE SPEKTROFOTOMETRİK ÖLÇÜM

Hastalardan elde edilen, EDTA'lı tüplerdeki periferik kanın 200 µl'si kit protokolüne uygun bir şekilde genomik DNA izolasyonu için kullanıldı. Bununla yaklaşık olarak 50 µl elution bufferda dilüe edilmiş genomik DNA elde edildi. Ekstrakte edilen DNA örnekleri DENOVIX DS-11 FX spektrofotometrik ölçüm cihazıyla ölçüldü. OD260/OD280 optik dansite oranına göre 1,7-1,8 arası değerler saf olarak kabul edildiğinden, bu aralıktaki DNA'lar çalışma için kullanıldı. Elde edilen DNA örnekleri ileri proseslerde kullanılmak üzere -20 ^{0}C derin dondurucuda saklandı.

DNA izolasyonu için Zymo Research Quick-DNA™ Miniprep Plus Kit kullanıldı.

3.3.1. DNA İzolasyon Aşamaları

- Hibridizasyon fırını +55°C'ye ayarlandı.
- Bir mikro santrifüj tüpüne 200 µl kan örneği eklendi, üzerine 200 µl BioFluid & Cell Buffer ve 20 µl Proteinase K ilave edilerek karışım hazırlandı.
- Karışım 10-15 saniye vortekslendikten sonra 55˚C'de 10 dakika inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrası örneğe 200 µl Genomik Bağlayıcı Tampon eklendi. İyice karıştırıldı ve 10-15 saniye vortekslendi.
- Karışım altında toplama tüpü bulunan filtreli spin kolona aktarıldı, ≥ 12.000 x g'de 1 dakika boyunca santrifüj edildi.
- Alt kısımdaki toplama tüpü atıldı ve filtreli spin kolon yeni toplama tüpüne koyuldu.
- Toplama tüpündeki spin kolonuna 400 µl DNA Pre Wash Water Buffer eklendi ve 1 dakika boyunca ≥ 12.000 x g'de santrifüj edildi.
- Toplama tüpleri boşaltıldı.
- Spin kolonuna 700 µl g-DNA Wash Buffer eklendi. ≥ 12.000 x g'de 1 dakika boyunca santrifüj edildi.
- Toplama tüpleri boşaltıldı.
- Spin kolonuna 200 µl g-DNA Wash Buffer eklendi. ≥ 12.000 x g'de 1 dakika boyunca santrifüj edildi.
- Toplama tüpü akışla birlikte atıldı.
- Spin kolonun temiz bir mikro santrifüj tüpüne aktarıldıktan sonra matrisin üzerine doğrudan ≥ 50 µl DNA Elüsyon Tamponu eklendi.
- Oda sıcaklığında 5 dakika inkübe edildi, ardından DNA'yi elüe etmek için maksimum hızda (14000 rpm) 1 dakika santrifüj edildi.
- DNA örneklerinin konsantrasyonu ve saflığı spektrofotometre (DENOVIX DS-11 FX, ABD) ile ölçüldü.
- OD260/OD280 optik dansite oranına göre 1,7-1,8 arası saflık değerini sağlayan örnekler WES analizi yapılmak üzere ≤ -20ºC'de saklandı.

3.4. TÜM EKZOM DİZİLEME (WES)

Genomik DNA izolasyonu yapıldıktan sonra üreticinin prosedürüne göre TWIST Human Comprehensive Exome kiti kullanılarak kütüphane hazırlığı ve ekzom

zenginleştirmesi yapıldı. Zenginleştirilmiş kütüphaneler, MGI DNBSEQ-G400 cihazında ve PE150-FCL kartuşları kullanılarak sekanslandı. Üreticinin spesifikasyonlarına göre her numune için 12,5 Gbp veri hedeflenir, bu da 100-120x ortalama hedef kapsama anlamına gelir.

Ham veriler, bwa mem 0.7.17 kullanılarak hg38'e hizalandı. Sıralama, çift işaretleme ve baz yeniden kalibrasyon adımları daha sonra GATK4 tarafından gerçekleştirildi. Varyant Çağrısı 2 ayrı algoritma kullanılarak yapılmıştır. GATK UnifiedGenotyper ve GATK HaplotypeCaller birbirini tamamlamak için kullanılmıştır. GATK SelectVariants seçeneği kullanılarak, her iki kümedeki düşük kaliteli varyantlar, sarmal sapması, okuma derinliği ve çağrı kalitesi parametrelerine göre elendi.

3.5.VARYANT ANALİZİ VE SINIFLANDIRMA

Yüksek kaliteli varyantlar, Ensembl (https://www.ensembl.org/index.html) 'den Variant Effect Predictor kullanılarak fonksiyonel açıklamaya tabi tutuldu. Yüksek etkiye, bilinmeyen öneme ve/veya potansiyel ekleme etkilerine sahip nadir varyantlara (MAF <%1) öncelik verildi. Gözlenen fenotip üzerinde potansiyel etkileri olan diğer değişkenler de analiz edildi. İlgilenilen varyantlar IGV'de görsel olarak kontrol edildi.

3.6. BİYOİNFORMATİK ANALİZ

Dizileme sonucu elde edilen verilerin biyoinformatik analizi R Bioconductor yazılımı kullanılarak yapıldı. Dizileme sonucu kalite kontrolleri yapıldı ve hatalı okumaların kaldırılmasından sonra VCF dosyalarını almak için değişken arama aracı kullanıldı. İkinci aşamada, 200.000'den fazla SNP içeren, 3 filtreye göre filtrelenmiş [1)frekans <0.01 2) Kalite puanı AD>25, 3) hasar gören ve olası hasar gören)]VCF dosyaları, R Bioconductor yazılımı kullanılarak elde edildi. Filtrelemeden sonra, seçilen varyantların rs numaraları ve yeni varyantlar belirlenip hastalıkla ilişkisi incelendi. Elde edilen gen bölgeleri ile ilgili biyoinformatik analizlerin gerçekleştirilmesinde Ensembl (https://www.ensembl.org/index.html), dbSNP (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/), SNPedia (https://www.snpedia.com/), ExAC database (https://gnomad.broadinstitute.org/), SNPnexus database (https://www.snp-nexus.org/v4/) ve ClinVar database (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/) programları kullanıldı. İncelenen genlerin diğer genlerle etkileşimleri, biyolojik prosesler, yolak analizleri ve hastalık ilişkilerinin incelenmesinde ise Gene Ontology

(http://geneontology.org/), GeneMANIA (https://genemania.org/), reactome (https://reactome.org/), KEGG PATHWAY Database (https://www.genome.jp/kegg/pathway.html), Cytoscape V.3.10.1 (https://cytoscape.org/download.html) ve DisGeNET (https://www.disgenet.org/) ve WikiPathways (https://www.wikipathways.org) programları kullanıldı.

3.7. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Elde edilen veriler, SPSS (V.25.0) programına yüklenerek analiz edildi. Proje sonucunda elde edilen klinik, biyokimyasal ve demografik veriler bir araya getirilerek yapılan moleküler analiz yöntemleri sonuçlarıyla birleştirilerek sonuçların anlamlılığı araştırıldı. Karakteristik özelliklerin karşılaştırılmasında ve demografik verilerin değerlendirilmesinde, student-t, chi-square, non parametrik Mann whitney-U testi testleri kullanılarak verilerin anlamlılık değerlendirmesi yapıldı. Elde edilen verilerden istatistiki olarak $p \leq 0.05$ olanlar anlamlandırıldı.

3.8. HEDEF GEN PANELİNİN OLUŞTURULMASI

Literatür taraması yapılarak IgE, IgE reseptörleri, IgE hücresel etki mekanizması ve yolakları ve IgE ile ilişkili durumlarda etkili olabilecek olan genler tespit edildi, toplam 28 gen aday olarak belirlendi ve bir gen paneli oluşturuldu (Tablo 3.1). Her hasta için panelde bulunan genlerdeki varyantlar incelendi. İki grupta da ortak olan varyantlar tespit edildi ve gruplar arası farkın istatistiksel olarak anlamlılığı değerlendirildi. Omalizumab tedavisine dirençli olan grupta öne çıkan varyantlar tespit edildi.

Tablo 3.1: IgE ve ilişkili mekanizmalarda etkili genler

IGHE	FCGR2B	IL13	STAT6
IGHG2	FCGR3A	IL21R	DARC
FCER1A	FCRL5	GATA1	WDPCP
FCER1B	C3	GATA2	DOCK8
FCER1G	IL1RL1	SPI1	CARD11
FCER2	IL4	LYN	SPINK5
FCGR2A	IL4R	RAD50	SLC9A3

4. BULGULAR

4.1. GÖNÜLLÜLERİN KLİNİK VE DEMOGRAFİK ÖZELLİKLERİ

4.1.1. Klinik ve Demografik Değerlendirme Sonuçları

Çalışmaya SBÜ Kocaeli Derince Eğitim araştırma Hastanesi Göğüs Hastalıkları polikliniğinde şiddetli astım takipli toplam 40 hasta dahil edildi. Hastaların hepsi astım sebebi ile ICS+LABA, LTRA, SABA ilaçlarını düzenli kullanan, bu tedaviye rağmen semptom kontrolü sağlanamayan, astım kontrol testi <20 skorlanan, sık alevlenme yaşayan ve bu sebeple acil başvurusu olup sistemik steroid kullanmak zorunda kalan hastalardı. Gönüllülerin tamamının tedavisine kontrol altına alınamayan şiddetli astım sebebi ile Omalizumab eklenmişti ve hepsi en az 16 hafta Omalizumab kullanarak takip edilmişti. Bu kriterleri sağlayan hastalardan gönüllü olanlar çalışmaya dahil edildi ve iki gruba ayrıldı. İlk gruba Omalizumab tedavisi sonrası semptom kontrolü ve klinik düzelme sağlanan (Tedavi sonrası ACT 20 ve üzerine yükselen) 20 hasta alındı, ikinci gruba ise Omalizumab tedavisi sonrası klinik ve semptomatik düzelme gözlenmeyen (Tedavi sonrası ACT: 20 altında kalan), astım kontrolü sağlanamayan 20 hasta dahil edildi.

Hastaların 31'i kadın, 9'u erkekti. Gruplar arası cinsiyet dağılımına bakıldığında 1. grupta 16 kadın, 4 erkek, 2. grupta 15 kadın, 5 erkek hasta vardı. Yaş ortalamalarına bakıldığında 1. grupta ortalama yaş 49,5 (max: 63, min: 29), 2. grupta ise 48,15 (max: 66, min: 35) olarak tespit edildi.

Hastaların klinik ve demografik verileri Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.1: Gönüllülerin klinik ve demografik verileri

	1.Grup Omalizumabdan fayda gören	2.Grup Omalizumab dirençli (OD)	Toplam	P değeri
Cinsiyet				
Kadın	16	15	31	
Erkek	4	5	9	
Yaş (ortalama)	49,5	48,15	48,85	
Min – Max	63- 29	66- 35	66- 29	0,5
Std sapma	9,74	9,34	9,45	
Vücut Kitle İndeksi (Kg/m^2)	29,86	26,42	28,14	
Astım süresi (ortalama)	17,6	21,25	19,42	0,26
Min- Max	8- 41	10- 40	8- 41	
Sigara içme durumu				
Hiç içmemiş	15	14	29	
Aktif kullanıcı	-	-	-	
Eski kullanıcı	5	6	11	
Allerji				
Evet	20	20		
Hayır	-	-		
Allerjik Rinit				
Var	13	14	27	
Yok	7	6	13	
Tedavi sonrası ACT (ortalama)	21,6	15,8	18,72	3,72
IgE (ortalama)	516	279	397	**0,01**
Bazal kan Eozinofil sayısı (ortalama)	0,37	0,46	0,41	0,41
Omalizumab kullanım süresi (ortalama)	49,9	58,4	54,1	
FEV1%	76,4	73,1	74,75	
FEV1/FVC %	79,85	73,9	76,89	

Hastaların biyokimyasal parametreler ve hemogram değerlerine ait sonuçlar Tablo 4.2'te listelenmiştir.

Tablo 4.2: Hemogram değerleri ve biyokimyasal değerler

Test	1.Grup Ortalama	2.Grup Ortalama	iki grubun ortalaması	Median	P değeri
WBC	7,14	7,52	7,33	7,2	0,51
RBC	4,50	4,78	4,64	4,6	0,06
PLT	264,35	351,15	307,75	294	0,01
HGB	12,61	13,42	13,02	13,05	0,12
HCT	37,87	40,63	39,25	39,65	0,06
NEU	4,22	4,19	4,20	3,9	0,94
LY	1,99	2,42	2,21	2,2	0,03
MO	0,49	0,53	0,51	0,5	0,5
EOS	0,37	0,46	0,41	0,25	0,41
BASO	0,03	0,03	0,032	0,01	0,74
AST	22	26	23	21	0,18
ALT	18	24	21	18,5	0,11
LDH	247	166	203	193,5	0,06
ÜRE	26	29	27	26,4	0,26
KREATİNİN	0,79	0,73	0,76	0,8	0,22
ALBUMİN	4,1	4,45	4,3	4,2	0,12

4.2. GENOMIK DEĞERLENDIRME SONUÇLARI

WES analizi sonuçlarına göre toplamda 836 gb veri elde edilmiştir. Genomik değerlendirme sonucunda hastaların patojenik, olası patojenik ve benign varyantları tespitleri edilmiştir. Genotipleme sonuçlarına göre gruplar arası karşılaştırmada genotipik ve allelik olarak farklılıklar olduğu bu farklılıklardan istatistiksel olarak anlamlılığı olanlar gibi olmayanlarında olduğu belirlenmiştir. Aşağıda gruplara göre yapılan varyant analizleri ayrı ayrı verilmektedir:

4.2.1 Omalizumab Dirençli Hastalarda Homozigot Genotip Açısından Anlamlı Olduğu Tespit Edilen Genler Ve Varyantlar

Omalizumab tedavisine dirençli (OD) hasta grubunda IGHE geni rs61984222 numaralı varyantında OD grubunda TT genotipine sahip bireylerin (85%) frekans ile kontrol grubuna (45%) göre anlamlı bir fark olduğu (p: 0,022 x^2: 7,62) tespit edilmiştir. Allelik değerlendirmede ise T alleline sahip bireylerin frekansının OD grubunda (87,5%) kontrole (62,5%) göre anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur (p: 0,0098 x^2: 6,666). IGHE geni rs61984224 numaralı varyantında GG genotipine sahip bireylerin (95%) frekansında, kontrol grubuna (45%) göre anlamlı bir fark olduğu (p: 0,0023 x^2: 12,07) tespit edilmiştir. Allelik olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır.

IGHG2 geni rs11626188 varyantında OD grubunda CC genotipine sahip bireylerin (40%) frekans ile kontrol grubuna (10%) göre anlamlı bir fark olduğu (p: 0,04 x^2: 6,17) tespit edilmiştir. Allelik değerlendirmede ise C alleline sahip bireylerin frekansının OD grubunda (40%) kontrol grubuna (15%) göre anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur (p: 0,01 x^2: 6,26).

C3 geni rs11085194 varyantında OD grubunda TT genotipine sahip bireylerin (30%) frekans ile kontrol grubuna (0%) göre anlamlı bir fark olduğu (p: 0,023 x^2: 7,52) tespit edilmiştir. Allelik değerlendirmede ise T alleline sahip bireylerde OD grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı fark tespit edilmemiştir.

DOCK8 geninde rs10217719 varyantında OD grubunda CC genotipine sahip bireylerin (75%) frekans ile kontrol grubuna (40%) göre anlamlı bir fark olduğu (p: 0,023 x^2: 7,46) tespit edilmiştir. Allelik değerlendirmede ise C alleline sahip bireylerin frekansının OD grubunda (87,5%) kontrol grubuna (57,5%) göre anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur (p: 0,0026 x^2: 9,02).

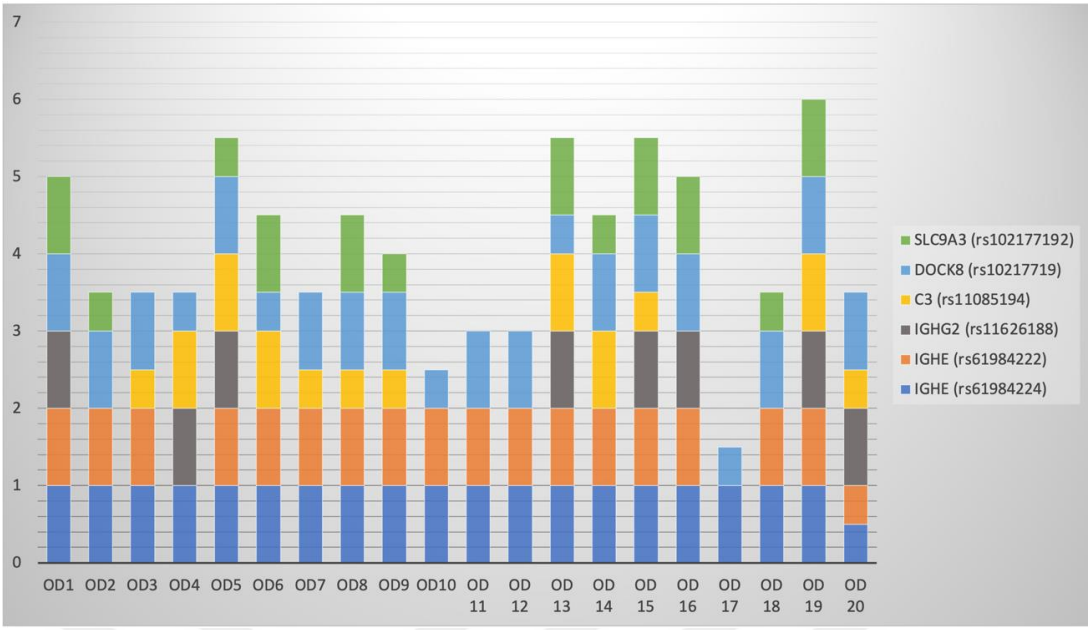
SLC9A3 geninde rs2303736 varyantında OD grubunda GG genotipine sahip bireylerin (35%) frekans ile kontrol grubuna (10%) göre anlamlı bir fark olduğu (p: 0,03 x^2: 6,73) tespit edilmiştir. Allelik değerlendirmede ise G alleline sahip bireylerin frekansının OD grubunda (47,5%) kontrol grubuna (15%) göre anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur (p: 0,001 x^2: 9,83).

Tablo 4.3: OD grubunda homozigot mutasyon tespit edilen varyantlar

Gen	Pozisyon	Varyasyon	dbSNP	Max Allel frekansı %95GA	P değeri
IGHE	chr14:105597873	T / G	rs61984224	0,635	**0,002**
IGHE	chr14:105597620	C / T	rs61984222	0,85	**0,02**
IGHG2	chr14: 105643131	G / C	rs11626188	0,978	**0,04**
C3	chr19: 6693560	C / T	rs11085194	0,48	**0,02**
DOCK8	chr9: 422157	T / C	rs10217719	0,94	**0,002**
SLC9A3	chr5: 488183	A / G	rs2303736	0,93	**0,03**

Elde edilen verilerden homozigotluk açısından OD grupta anlamlı sonuçlanan genler ve varyantlara ait bilgiler Tablo 4.3'te, hasta dağılımları ise Şekil 4.1'de gösterilmiştir.

Homozigot genotip açısından anlamlı olan genlerin ve varyantların genotip ve allel dağılımları Tablo 4.4, Tablo 4.5, Tablo 4.6, Tablo 4.7, Tablo 4.8 ile gösterilmiştir.



Şekil 4.1: Homozigot varyantların hastalardaki dağılımı (homozigot varyantlar 1 birim, heterozigot varyantlar ise o,5 birim ile gösterilmiştir)

Tablo 4.4: IGHE (rs61984222 ve rs61984224) genotip ve allel dağılımları

		OD		**Kontrol**		**X^2**	**P değeri**
		n	%	n	%		
	Genotip						
rs61984222	**GG**	17	85	9	45	7,62	**0,02**
	TG	1	5	7	35		
	TT	2	10	4	20		
	Allel						
	G	35	87	25	62,5	6,66	**0,009**
	T	5	12,5	15	37,5		
	Genotip						
rs61984224	**TT**	19	95	9	45	12,07	**0,002**
	CT	1	5	7	35		
	CC	0	0	4	20		
	Allel						
	T	39	97,5	25	62,5	15,31	9,1
	C	1	2,5	15	37,5		

Tablo 4.5: IGHG2 (rs11626188) genotip ve allel dağılımları

	OD		**Kontrol**		**X^2**	**P değeri**
	n	%	n	%		
Genotip						
CC	8	40	2	10	6,17	**0,004**
GC	0	0	2	10		
GG	12	60	16	80		
Allel						
C	16	40	6	15	6,2	**0,01**
G	24	60	34	85		

Tablo 4.6: C3 (rs11085194) genotip ve allel dağılımları

	OD		**Kontrol**		**X^2**	**P değeri**
	n	%	n	%		
Genotip						
TT	6	30	0	0	7,5	**0,02**
CT	6	30	11	55		
CC	8	40	9	45		
Allel						
C	18	45	11	27,5	2,65	0,1
T	22	55	29	72,5		

Tablo 4.7: DOCK8 (rs10217719) genotip ve allel dağılımları

	OD		**Kontrol**		**X^2**	**P değeri**
	n	%	n	%		
Genotip						
CC	15	75	8	40	7,46	**0,02**
TC	5	25	7	35		
TT	0	0	5	25		
Allel						
C	35	87,5	23	57,5	9,02	**0,002**
T	5	12,5	17	42,5		

Tablo 4.8: SLC9A3 (rs2303736) genotip ve allel dağılımları

	OD		**Kontrol**		**X^2**	**P değeri**
	n	%	n	%		
Genotip						
GG	7	35	2	10	6,73	**0,03**
AG	5	25	2	10		
AA	8	40	16	80		
Allel						
G	19	47,5	6	15	9,83	**0,001**
A	21	52,5	34	85		

4.2.2 Omalizumab Dirençli Hastalarda Heterozigot Genotip Açısından Anlamlı Olduğu Tespit Edilen Genler Ve Varyantlar

Yapılan incelemelerde OD grubu lehine istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilen heterozigot mutasyon şöyledir.

FCER2 geni rs2287867 varyantında OD grubunda AG genotipine sahip bireylerin (65%) frekans ile kontrol grubuna (30%) göre anlamlı bir fark olduğu (p: 0,058 x^2: 5,69) tespit edilmiştir. Allelik değerlendirmede ise A alleline sahip bireylerde OD grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. FCER2 geni rs2287868 varyantında OD grubunda AG genotipine sahip bireylerin (65%) frekans ile kontrol grubuna (30%) göre anlamlı bir fark olduğu (p: 0,058 x^2: 5,69) tespit edilmiştir. Allelik değerlendirmede ise A alleline sahip bireylerde OD grubun ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. FCER2 geni rs55828544 varyantında OD grubunda chr19:7699478 pozisyonundaki TTTT delesyonunu heterozigot olarak taşıyan bireylerde (60%) frekans ile kontrol grubuna (15%) göre anlamlı bir fark olduğu (p: 0,0085 x^2: 9,53) tespit edilmiştir. Allelik değerlendirmede ise iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir.

IL4R geni rs1801275 varyantında OD grubunda GA genotipine sahip bireylerin (50%) frekans ile kontrol grubuna (5%) göre anlamlı bir fark olduğu (p: 0,0009 x^2: 13,84) tespit edilmiştir. Allelik değerlendirmede ise G alleline sahip bireylerin frekansının OD grubunda (35%) kontrol grubuna (2,5%) göre anlamlı yükseklikte olduğu bulunmuştur (p: 0,0001 x^2: 13,86).

IL1RL1 geni rs1041973 varyantında OD grubunda AC genotipine sahip bireylerin (45%) frekans ile kontrol grubuna (15%) göre anlamlı bir fark olduğu (p: 0,041 x^2: 6,36) tespit edilmiştir. Allelik değerlendirmede ise A alleline sahip bireylerde OD grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir.

Analiz sonuçlarına göre heterozigot mutasyon tespit edilen ve omalizumab dirençli grup lehine anlamlı bulunan genler ve varyantlar Tablo 4.9'da gösterilmiştir.

Tablo 4.9: OD grubunda heterozigot mutasyon tespit edilen varyantlar

Gen	Pozisyon	Varyasyon	dbSNP	Allel frekansı %95 GA	P değeri
IL4R	chr16:27363079	A / G	rs1801275	0,691	**0,0009**
FCER2	chr19:7699855	G / A	rs2287867	0,658	**0,05**
FCER2	chr19:7699886	T / C	rs2287868	0,659	**0,05**
FCER2	chr19:7699478	TTTT/____	rs55828544	0,317	**0,008**
IL1RL1	chr2:102339008	C / A	rs1041973	0,48	**0,04**

Varyantlara ait genotip ve allel dağılımları Tablo 4.10, Tablo 4.11, Tablo 4.12 de gösterilmiştir.

Varyantların hastalara göre dağılım şeması da Şekil 4.2'de gösterilmektedir. Genlerin birbirleri ile olan etkileşimini gösteren şema Şekil 4.3'te görülmektedir.

Tablo 4.10: IL4R (rs1041973) genotip ve allel dağılımları

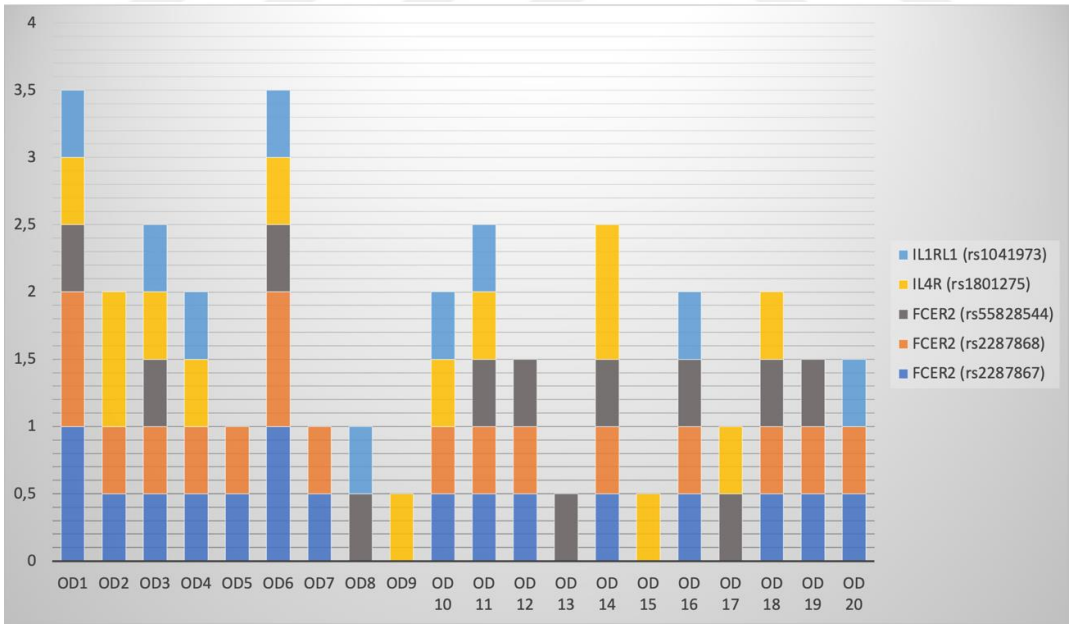
	OD		**Kontrol**		**X^2**	**P değeri**
	n	%	n	%		
Genotip						
GG	2	10	0	0	13,84	**0,0009**
AG	10	50	1	5		
AA	8	40	19	95		
Allel						
G	14	35	1	2,5	13,86	**0,0001**
A	26	65	39	97,5		

Tablo 4.11: FCER2 (rs2287867, rs2287868) genotip ve allel dağılımları

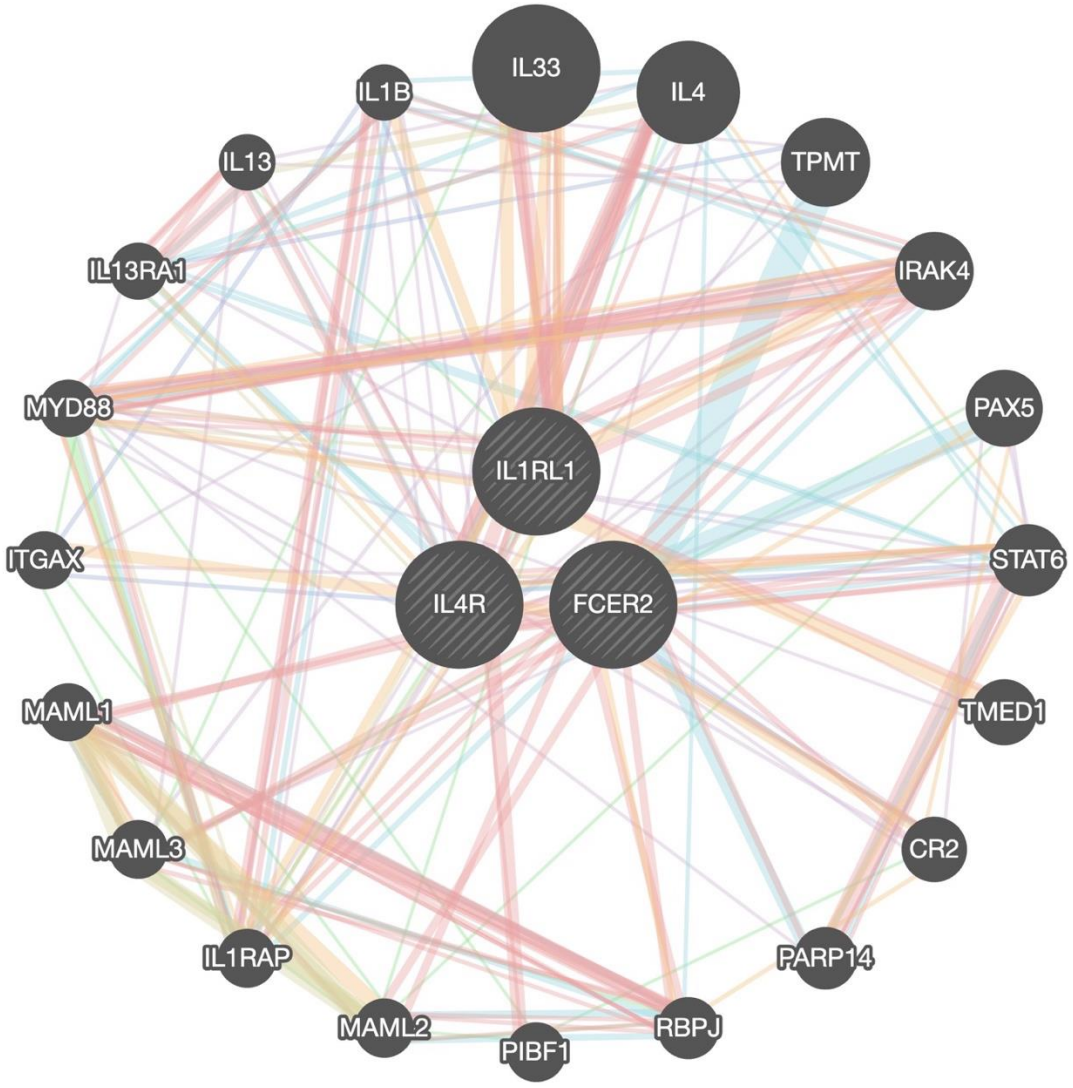
		OD		**Kontrol**		**X^2**	**P değeri**
		n	%	n	%		
	Genotip						
rs2287867	**AA**	2	10	7	35	5,69	**0,05**
	GA	13	65	6	30		
	GG	5	25	7	35		
	Allel						
	A	17	42,5	20	50	0,45	0,5
	G	23	57,5	20	50		
	Genotip						
rs2287868	**CC**	2	10	7	35	5,69	**0,05**
	TC	13	65	6	30		
	TT	5	25	7	35		
	Allel						
	C	17	42,5	20	50	0,45	0,5
	T	23	57,5	20	50		

Tablo 4.12: IL1RL1 (rs1041973) genotip ve allel dağılımları

	OD		**Kontrol**		**X^2**	**P değeri**
	n	%	n	%		
Genotip						
AA	0	0	3	15	6,36	**0,04**
CA	9	45	3	15		
CC	11	55	14	70		
Allel						
A	9	22,5	9	22,5	0	1
C	31	77,5	31	77,5		



Şekil 4.2: Heterozigot varyantların hastalardaki dağılım şeması



Şekil 4.3: Heterozigot genlerin etkileşim şeması

4.2.3 Allelik Olarak OD Grubunda Anlamlı Bulunan Genler Ve Varyantlar

DOCK8 geninde rs10217568 varyantında gruplar arasında genotipik olarak anlamlı farklılık tespit edilmemişken, allelik değerlendirmede C alleline sahip bireylerin frekansının OD grubunda (87,5%) kontrol grubuna (67,5%) göre anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur (p: 0,03 x^2: 4,58). DOCK8 geninde rs10758598 varyantında gruplar arasında genotipik olarak anlamlı farklılık tespit edilmemişken, allelik değerlendirmede C alleline sahip bireylerin frekansının OD grubunda (87,5%) kontrol grubuna (67,5%) göre anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur (p: 0,03 x^2: 4,58). DOCK8 geninde varyantında gruplar arasında genotipik olarak anlamlı farklılık tespit edilmemişken, allelik değerlendirmede C alleline sahip bireylerin frekansının OD grubunda (85%)

kontrol grubuna (65%) göre anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur (p: 0,038 x^2: 4,2). DOCK8 geninde rs145010074 varyantında gruplar arasında genotipik olarak anlamlı farklılık tespit edilmemişken, allelik değerlendirmede söz konusu delesyona sahip bireylerin frekansının OD grubunda (32,5%) kontrol grubuna (10%) göre anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur (p: 0,013 x^2: 6,05).

Analizler sonucunda allelik olarak omalizumab dirençli grup lehine sonuçlanan genler ve varyantlar listesi Tablo 4.13'de gösterilmiştir.

Tablo 4.13: OD grubunda allelik olarak anlamlı varyantlar

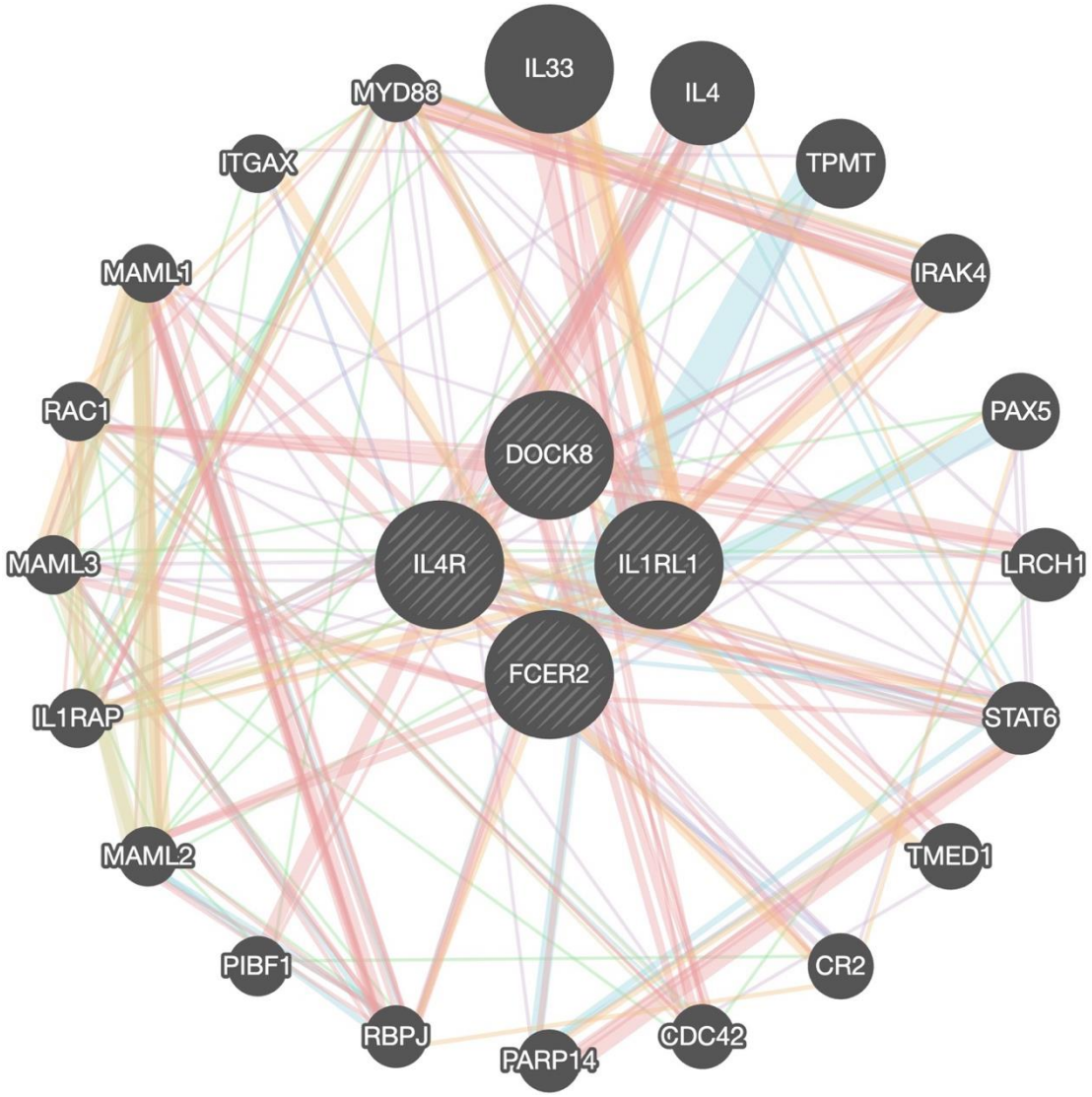
Gen	Pozisyon	Varyasyon	dbSNP	Allel frekansı %95 GA	P değeri
DOCK8	chr9: 439467	A / C	rs10217568	0,983	**0,03**
DOCK8	chr9: 439453	G / C	rs10758598	0,94	**0,03**
DOCK8	chr9: 432081	T / C	rs1329377	0,972	**0,03**
DOCK8	chr9: 451891	ATGCATAT ACATATAC/-	rs145010074	0,963	**0,01**
FCER2	chr19:7699924	G / A	rs11672993	0,124	**0,02**
IL4R	chr16:27346463	G / A	rs3024570	0,101	**0,04**
IL4R	chr16:27342036	C / T	rs3024544	0,16	**0,02**
IL4R	chr16:27341392	C / T	rs3024536	0,158	**0,01**
IL1RL1	chr:102348932	A / C	rs12999542	0,29	**0,04**

FCER2 geninde rs11672993 varyantında gruplar arasında genotipik olarak anlamlı farklılık tespit edilmemişken, allelik değerlendirmede A alleline sahip bireylerin frekansının OD grubunda (17,5%) kontrol grubuna (2,5%) göre anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur (p: 0,025 x^2: 5).

IL4R geninde rs3024570 varyantında gruplar arasında genotipik olarak anlamlı farklılık tespit edilmemişken, allelik değerlendirmede A alleline sahip bireylerin frekansının OD grubunda (15%) kontrol grubuna (2,5%) göre anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur (p: 0,047 x^2: 3,91). IL4R geninde rs3024544 varyantında gruplar arasında genotipik olarak anlamlı farklılık tespit edilmemişken, allelik değerlendirmede T alleline sahip bireylerin frekansının OD grubunda (17,5%) kontrol grubuna (2,5%) göre anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur (p: 0,025 x^2: 5). IL4R geninde rs3024536 varyantında gruplar arasında genotipik olarak anlamlı farklılık tespit edilmemişken, allelik değerlendirmede T alleline sahip bireylerin frekansının OD grubunda (20%) kontrol grubuna (2,5%) göre anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur (p: 0,0132 x^2: 6,13).

IL1RL1 geninde rs12999542 varyantında gruplar arasında genotipik olarak anlamlı farklılık tespit edilmemişken, allelik değerlendirmede C alleline sahip bireylerin frekansının OD grubunda (15%) kontrol grubuna (2,5%) göre anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur (p: 0,047 x^2: 3,91).

Genlerin birbirleri ile olan etkileşim şeması Şekil 4.4'te gösterilmiştir.



Şekil 4.4: Allelik olarak anlamlı genlerin etkileşim şeması

4.2.4 Sadece OD Grubunda Tespit Edilen Genler Ve Varyantlar

IL4R geni rs1805015 varyantında OD grubunda CT veya CC genotipine sahip bireylerin (40%) frekans ile kontrol grubuna (0%) göre anlamlı bir fark olduğu (p: 0,0067 x^2: 10) tespit edilmiştir. Allelik değerlendirmede ise C alleline sahip bireylerin frekansının OD grubunda (75%) kontrol grubuna (0%) göre anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur (p: 0,0007 x^2: 11,4). IL4R geni rs3024676 varyantında OD grubunda AC veya AA genotipine sahip bireylerin (45%) frekans ile kontrol grubuna (0%) göre anlamlı bir fark olduğu (p: 0,0030 x^2:11,61) tespit edilmiştir.

Allelik değerlendirmede ise C alleline sahip bireylerin frekansının OD grubunda (75%) kontrol grubuna (0%) göre anlamlı olarak yüksek olduğu bulunmuştur (p: 0,0003 x^2: 12,75). IL4R geni rs1805016 varyantı sadece OD grubunda saptanmıştır. GT genotipine sahip bireylerin allelik değerlendirmesinde G alleline sahip bireylerin frekansının (20%) kontrol grubuna (0%) göre anlamlı bir fark olduğu (p: 0,0028 x^2:8,88) tespit edilmiştir. IL4R geni rs2234924 varyantı sadece OD grubunda heterozigot olarak saptanmıştır. GC genotipine sahip bireylerin allelik değerlendirmesinde G alleline sahip bireylerin frekansının (17,5%) kontrol grubuna (0%) göre anlamlı bir fark olduğu (p: 0,0056 x^2:7,67) tespit edilmiştir. IL4R geni rs1805013 varyantı sadece OD grubunda heterozigot olarak saptanmıştır. TC genotipine sahip bireylerin allelik değerlendirmesinde T alleline sahip bireylerin frekansının (17,5%) kontrol grubuna (0%) göre anlamlı bir fark olduğu (p: 0,0056 x^2:7,67) tespit edilmiştir. IL4R geni rs2234898 heterozigot varyantı sadece OD grubunda saptanmıştır. TG genotipine sahip bireylerin allelik değerlendirmesinde T alleline sahip bireylerin frekansının (10%) kontrol grubuna (0%) göre anlamlı bir fark olduğu (p: 0,04 x^2:4,21) tespit edilmiştir. IL4R geni rs2234900 heterozigot varyantı sadece OD grubunda saptanmıştır. CT genotipine sahip bireylerin allelik değerlendirmesinde C alleline sahip bireylerin frekansının (10%) kontrol grubuna (0%) göre anlamlı bir fark olduğu (p: 0,04 x^2:4,21) tespit edilmiştir. IL4R geni rs1805011 heterozigot varyantı sadece OD grubunda saptanmıştır. TA genotipine sahip bireylerin allelik değerlendirmesinde T alleline sahip bireylerin frekansının (10%) kontrol grubuna (0%) göre anlamlı bir fark olduğu (p: 0,04 x^2:4,21) tespit edilmiştir.

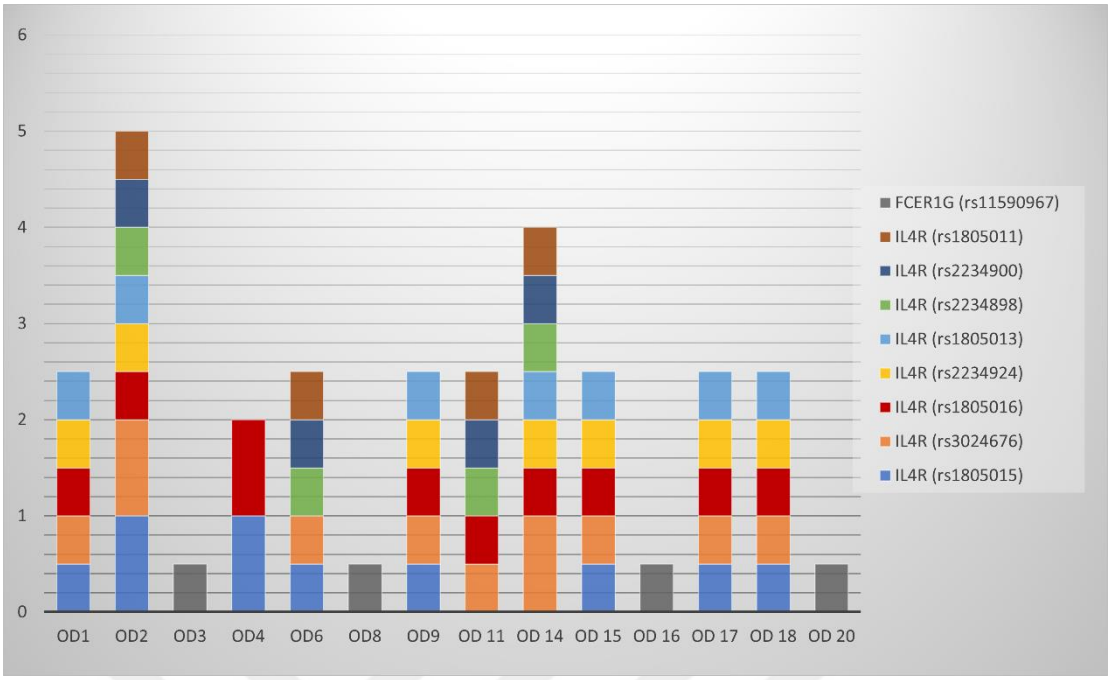
FCER1G geni rs11590967 heterozigot varyantı sadece OD grubunda saptanmıştır. AG genotipine sahip bireylerin allelik değerlendirmesinde A alleline sahip bireylerin frekansının (10%) kontrol grubuna (0%) göre anlamlı bir fark olduğu (p: 0,04 x^2:4,21) tespit edilmiştir.

Analizler sonucunda sadece omalizumab dirençli grupta tespit edilen ve sayıca istatistiksel olarak anlamlı olan genler ve varyantlar Tablo 4.14'de gösterilmiştir.

Tablo 4.14: Sadece OD grubunda tespit edilen varyantlar

Gen	Pozisyon	Varyasyon	dbSNP	Allel frekansı %95 GA	P değeri
IL4R	chr16:27362859	T / C	rs1805015	0,377	**0,0007**
IL4R	chr16:27362237	C / A	rs3024676	0,611	**0,003**
IL4R	chr16:27363606	T / G	rs1805016	0,314	**0,002**
IL4R	chr16:27363918	C / G	rs2234924	0,073	**0,005**
IL4R	chr16:27362659	C / T	rs1805013	0,076	**0,005**
IL4R	chr16:27362594	G / T	rs2234898	0,535	**0,04**
IL4R	chr16:27362651	T / C	rs2234900	0,583	**0,04**
IL4R	chr16:27362551	A / T	rs1805011	0,0001	**0,04**
FCER1G	chr1:161218797	G / A	rs11590967	0,04	**0,04**

Varyantların hastalardaki dağılım grafiği Şekil 4.5'te gösterilmiştir.



Şekil 4.5: Sadece OD grubunda tespit edilen varyantların hastalardaki dağılımı

4.2.5 OD Grubunda Tespit Edilen Yeni Varyantlar

Analizler sonucunda literatürde ve uluslararası veri tabanlarında daha önce tanımlanmamış yeni (novel) varyantlar tespit edilmiştir.

SLC9A3 geni chr5: 474655 lokalizasyonunda tespit edilen yaklaşık 172 bazlık delesyon bölgesi OD grubunda bulunan 3 hastada tespit edilmiş olup uluslararası veritabanlarında (OMIM, Clinvar, dbSNP vb.) tanımlanmış bir rs numarası bulunmamaktadır.

FCER2, FCGR2B, GATA2, WDPCP genlerinde de veri tabanlarında daha önce tanımlanmamış yeni (novel) varyantlar tespit edilmiştir. Yalnızca omalizumab dirençli hasta grubunda tespit edilen bu varyantların listesi Tablo 4.15'de gösterilmiştir.

Tablo 4.15: Yeni (novel) varyantlar

Gen	Pozisyon	Varyasyon	Mutasyon	Varyantın tespit edildiği hasta sayısı / genotip
SLC9A3	chr5: 474655-474827	del	splicing	3/ homozigot
FCER2	chr19: 7697503	A / T	anlamsız	1/ homozigot
FCGR2B	chr1:161674074	G / A	splicing	1/ homozigot
GATA2	chr3:128486797	G / A	splicing	1/ heterozigot
WDPCP	Chr2: 63571361	A / C	splicing	1/ heterozigot

5. TARTIŞMA

Astım nefes darlığı, hışıltılı solunum atakları ile seyreden alt solunum yollarının kronik inflamatuar hastalıklarından biridir. Hastalığın tedavisinde bronkospazmı ve kronik inflamasyonu kontrol altına almak üzere geliştirilmiş bronkodilatör, anti inflamatuar ve anti alerjik moleküller kullanılmaktadır. Özellikle şiddetli astımın kontrol altına alınması amacı ile son on beş yıldır biyolojik moleküller de tedaviye eklenmiştir. Deneyimli personel ve yüksek maliyet gerektiren biyolojik moleküllerin doğru hasta seçimi yapılarak kullanılması ülke kaynaklarının etkili kullanılmasını sağlamak, hastaların faydasız tedavi stratejileri ile zaman kaybetmesini önlemek ve astım yönetimini kişiselleştirmek için hayati öneme sahiptir.

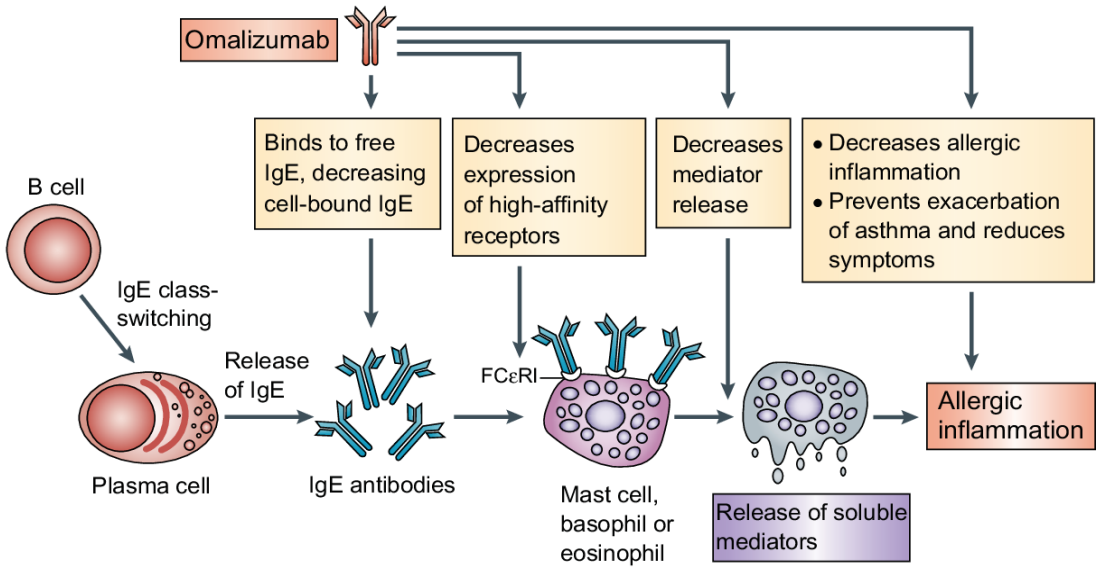
Şiddetli astım tedavi algoritmasına ilk giren biyolojik molekül olan "Omalizumab"ın aktif kullanımı sonrası yıllar içinde tedaviden fayda görmeyen bir hasta grubunun oluştuğu aşikardır. Farklı coğrafyalardan hem astım hem de ürtiker tanısı ile omalizumab tedavisinden fayda görmeyen hastaların tespit edildiğine dair çalışmalar son yıllarda artış göstermiştir (75,76).

Omalizumaba direnç mekanizmalarının tespit edilerek doğru hasta seçiminin yapılabilmesi, etki gösterdiği hasta profilinin tanımlanması amacı ile yapılan çalışmalar daha çok biyokimyasal parametreler üzerinden tanımlama yapmaya çalışmıştır (77,78). Çalışmalar neticesinde hangi hastaların tedaviden fayda göreceğini, hangi hastaların tedaviye cevapsız kalacağını öngörecek bireysel yanıt faktörleriyle ilgili boşluklar doldurulamamıştır.

Qian ve arkadaşları tarafından 2024 yılında yayımlanan çalışmada omalizumab tedavisine yanıt için bir tahmin modeli oluşturulmaya çalışılmıştır. Çalışmada hastaların yüksek Ekshale nitrik oksit (FeNO) ve yüksek kan eozinofil sayımlarının yukarı regüle edilmiş hava yolu inflamasyonunun dolaylı belirteçleri olduğunu ve omalizumab tedavisinin klinik yanıtını tahmin edebileceğini bildirilmiştir (79). Bir başka çalışmada Zhang ve arkadaşları yüksek kan eozinofil sayısının omalizumaba zayıf yanıtla ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (80). Benzer şekilde Branicka ve arkadaşlarının kandaki eozinofil/lenfosit oranını baz alarak tedavi yanıtını öngörme çalışsa da tedaviye yanıt veren alt grupları tanımlamada yetersiz kalmıştır (78). Astım tedavisini

etkili bir şekilde kişiselleştirmek için hem moleküler içgörüleri hem de bireysel varyasyonları kapsayan bir yaklaşım ile etkili sonuçlar elde etmek mümkün olabilir. Genetik polimorfizmlerin tespit edilmesi hastaların biyolojik ilaçlara verdiği tepkileri belirleyebilir ve tedavinin bireyselleştirilmesine katkı sunabilir.

Omalizumab molekülünün etki mekanizması serum serbest IgE'ye bağlanması ve IgE nin FcεRI reseptörü ile etkileşiminin engellenmesini sağlamak üzere geliştirilmiştir (81). (Şekil 5.1)



Şekil 5.1: Omalizumab etki mekanizması (82)

Bu etki mekanizması düşünüldüğünde konu ile ilgili çalışmaların genomik ve moleküler alana doğru kayması kaçınılmazdır. 2023 yılında Rojo ve arkadaşlarının yayımladığı çalışma omalizumab tedavi yanıtı ile ilgili genomik düzeyde yapılan çalışmaların ilk örneklerindendir. Çalışmada omalizumabın etki mekanizmasında ve yanıt sürecinde yer alan genlerdeki klinik değişkenler ve tek nükleotid polimorfizmleri araştırılmış ve tedavi yanıtını öngörmede biyobelirteç olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (83). Bizim bulgularımız da bu çalışmayı destekler niteliktedir. Rojo ve arkadaşlarının çalışmasında FCER1A, FCER1B, C3, FCGR2A, FCGR2B, FCGR3A, IL1RL1, GATA2 genlerinde belirlenmiş olan SNP'lere odaklanılmış ve tedavi yanıtı ile ilişkili oldukları tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda da IgE nin üretimi, aktivasyonu, reseptör ilişkileri, hücre içi sinyal yolakları üzerine etkili olan genlerdeki polimorfizmler

tüm ekzom dizileme yöntemi kullanılarak tespit edilmiş ve omalizumab tedavisine cevap ile ilişkilendirilmiştir.

Çalışmamızda 14. kromozomda yer alan IGHE geninin rs61984222 ve rs61984224 varyantlarında omalizumab tedavisine dirençli hasta grubunda homozigot mutasyon varlığı tespit edilmiştir. IGHE immünglobülinin ağır sabit epsilon parçasını kodlayan gendir. Salgılanan IgE'nin sabit bölgesi, IgE antikorunun Fc bölgesi olarak da bilinir. İmmünglobülin E nin reseptör bağlanma aktivitesinden sorumludur. IGHE protein kodlayan bir gen olup paraziter ve alerjik hastalıklar ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (84,85). Omalizumab molekülü IgE nin ağır zincirindeki C3 epsilon bölgesine bağlanarak IgE nin reseptörüne bağlanmasını engeller ve alerjik reaksiyon kaskadının oluşmasını durdurur (81).

IGHE geninin önemli bir paraloğu olan IGHG2 geninde de OD hasta grubunda rs11626188 varyantında homozigot mutasyon varlığı tespit edilmiştir. IGHG2 geni 14. Kromozomda bulunan ve immünglobulin ağır sabit gama 2 bölgesini kodlayan gendir. İmmünglobülinlerin antijen bağlama aktivitesini ve reseptör bağlama aktivitesini etkinleştirdiği, antibakteriyel humoral yanıt ve tamamlayıcı aktivasyonunda rol oynadığı tahmin edilmektedir (84,86). Literatürde IGHG2 geninin 4. Ekzonunda bir baz insersiyonunun tespit edildiği ve bu mutasyonun düşük IgG seviyeleri ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (87). IGHE ve IGHG2 genlerinin birlikte homozigot mutasyonu IgE'nin omalizumab ile bağlanmasını ve tedavi etkinliğini değiştireceğini düşünmekteyiz.

C3 geni 19. Kromozomda yerleşik bir gendir. Kompleman bileşeni C3, kompleman sisteminin aktivasyonunda merkezi bir rol oynayan hem klasik hem de alternatif kompleman yolunun aktivasyonu için gereklidir. Kaitao ve arkadaşlarının 2020 yılında yayımladıkları çalışmalarında C3 genindeki ekspresyon artışının JAK-STAT sinyal yolunun aşırı aktivasyonuna sebep olduğu ve bu durumun mide kanseri ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (88). Tolosa ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada C3 genindeki varyantların omalizumab tedavisine iyi yanıtla ilişkili olduğu, genin işlevselliğindeki değişikliklerin omalizumab'ın IgE'ye bağlanması da değişebileceği vurgulanmıştır (83). C3 geni rs11085194 varyantı veri tabanlarında patojenik olmayan varyant olarak nitelendirilmiştir. Bizim çalışmamızda bu varyantın homozigot genotipi omalizumab tedavisine yanıtsızlık ile ilişkili bulunmuştur. IgE nin yüksek afiniteli reseptörü olan FceRI ile etkileşimi sonrası hücre içinde JAK-STAT sinyal yolu aktive olur. C3 geninde

ortaya çıkan mutasyonların JAK-STAT yolağında anormal aktivasyona sebep olabileceğini, IgE ve reseptörünün hücre içi etkilerinin farklılaşmasına yol açabileceğini düşünmekteyiz.

DOCK8 geni 9. Kromozomda yerleşen bir gendir. Guanin nükleotid değişim faktörü ailesinin bir üyesidir. Bağışıklık tepkileri sırasında, interstisyel dendritik hücre göçü için gereklidir (89). DOCK8 eksikliği, bağışıklık hücresi göçünü, fonksiyonunu ve sağkalımını bozar ve hem doğuştan hem de adaptif bağışıklık tepkilerini etkiler. Klinik olarak DOCK8 eksikliği, alerjik inflamasyonun yanı sıra enfeksiyonlara, otoimmüniteye ve maligniteye yatkınlıkla karakterizedir (90). Ayrıca DOCK 8 geninin hiper IgE sendromu ile ilşkisi tespit edilmiştir. Hiper IgE sendromunda DOCK genindeki mutasyon B lenfositleri tarafından immünoglobulin E üretiminin yoğunlaşmasına yol açmaktadır (91). Bizim çalışmamızda DOCK8 geninde rs10217719 varyantında homozigot mutasyon tespit edilmiş ve omalizumab tedavisine direnç ile ilişkili bulunmuştur. Bu durum DOCK8 genindeki mutasyon sebebi ile IgE yapısında oluşan değişikliklerin omalizumab molekülüne yanıt ile ilşkisi olduğunu düşündürmektedir.

SLC9A3 geni 5. Kromozomda yerleşmiş olan ve plazma membranından sodyum/hidrojen pompalanmasını sağlayan proteini kodlayan bir gendir. Böbrek ve gastrointestinal ve solunum yolları epitelinin apikal membranında tuz ve sıvı emilimini sağlar ve pH homeostazını düzenler (92). Eozinofilik özofajitli pediatrik hastalardan alınan özofagus biyopsi örneklerinde pH düzenlenmesi ve asit koruyucu mekanizmalarla ilişkili olarak SLC9A3 geninde düzensizlikler olduğu tespit edilmiştir. Özofagus epitel hücrelerinin analizlerinde IL-13 ile indüklenen, STAT6'ya bağlı SLC9A3 ekspresyonunun ve Na^+-bağımlı proton salgılanmasının aktivatörü olduğunu ve SLC9A3 aktivitesinin hücreler arası boşluklardaki genişleme ile pozitif korelasyon gösterdiğini ortaya konmuştur (93). Porto Rikolu çocuklarda yapılan genom boyu ilişkilendirme çalışmasında SLC9A3 genindeki metilasyon seviyelerinin hava yolu epitel bütünlüğü ve bağışıklık düzenlemesiyle ilgili olduğu, atopi veya astımda etkili olduğu raporlanmıştır (94). Çalışmamızda SLC9A3 geninde tespit edilen mutasyonların omalizumab direnci ile ilişkili olduğunu düşünmekteyiz.

FCER2 geni IgE nin düşük afiniteli reseptörünü kodlayan gendir. 19. Kromozomda yerleşiktir. IgE üretiminin düzenlenmesinde ve B hücrelerinin farklılaşmasında temel rollere sahiptir. B hücrelerinde, IgE'ye bağlı antijen alımını ve T

hücrelerine sunumunu başlatır (95). Handoyo ve arkadaşlarının çalışmasında FCER2 genindeki rs2287867 varyantının astımlı çocuklarda serum IgE seviyelerinde düşme ile ilişkili olduğu, Tantisira ve arkadaşlarının çalışmasında ise IgE seviyelerindeki artış ve astımın sık alevlenmesi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (96,97). FCER2 genindeki rs2287868 varyantının enfeksiyona sekonder gelişen akut solunum yolu sendromu ile ilişkisi araştırılmış ancak anlamlı bir sonuç elde edilememiştir. Bizim çalışmamızda ise FCER genindeki rs2287867, rs2287868 ve rs55828544 varyantlarında heterozigot mutasyonun ve rs11672993 varyantında A alleline sahip olma durumunun omalizumab tedavisine yanıtsızlık ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmamızda omalizumaba yanıtsız hasta grubunun serum IgE seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde daha düşük bulunması Tantisira ve arkadaşlarının bulguları ile uyuşmamaktadır. Bulgularımız Hondoyo ve arkadaşlarının çalışmasını destekler nitelikte olup, FCER2 geninde tespit ettiğimiz mutasyonların serum IgE seviyelerinde düşme ve bu sebeple omalizumaba yanıtsızlık ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir.

IL4R geni 16. Kromozomda konumlanmış bir gen olup IgE üretimini düzenlemek için interlökin 4 ve interlökin 13'e bağlanabilen bir tip I transmembran protein olan interlökin-4 reseptörünün alfa zincirini kodlar. IL4R genindeki varyasyonlar, alerjik rinit, sinüzit, astım gibi atopik hastalıklar ile ilişkilendirilmiştir. Hem IL4R hem de IL13 reseptörü alerjik inflamasyon bölgelerinde JAK-STAT6 yolu aracılığı ile B lenfositlerinin uyarılmasını ve IgE ve mukus üretimini destekler. Ayrıca IL4 yanıtı, Th2 farklılaşmasını desteklemede de rol oynar (98). Nguyen ve arkadaşlarının 2025 yılında yayımlanan çalışmasında Vietnam popülasyonunda IL4R geni rs1801275 varyantında G alleli taşıyor olmanın atopik dermatit şiddeti ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (99). Başka bir çalışmada rs1801275 ve rs1805010 varyantlarındaki single nükleotit polimorfizmlerinin Suudi Arabistan popülasyonunda astım riskinde artış ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (100). Ziyab ve arkadaşlarının çalışmasında rs3024676 varyantının homozigot mutasyonunun alerjik hastalıklara yatkınlık ile ilişkili olduğu raporlanmıştır (101). Bizim çalışmamızda IL4R genindeki rs1801275 varyantının heterozigot mutasyonunun omalizumab tedavi direnci ile işkili olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca rs3024570, rs3024544, rs3024536, rs1805015, rs3024676, rs1805016, rs2234924, rs1805013, rs2234898, rs2234900, rs1805011 varyantlarındaki mutasyonlar da omalizumab tedavisine yanıtsızlık ile korelasyon göstermiştir.

IL1RL1 geni 2. kromozom üzerinde lokalize bir gendir. Doğuştan ve adaptif bağışıklıkta rol almaktadır. Brezilya popülasyonunda yapılan bir çalışmada IL1RL1 geninde rs1041973 varyantında AA genotipinin atopi ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (102). Bizim çalışmamızda da rs1041973 varyantının heterozigot mutasyonunun omalizumab tedavi yanıtsızlığı ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

FCER1G geni yüksek afiniteli IgE reseptörü olarak nitelendirilen hücre yüzey reseptörünü kodlayan gendir.19. kromozomda lokalizedir. Alerjik reaksiyonlarda rol oynadığı bilinen FCER1G geninin alerji dışında kanser araştırmalarında hastaların prognozunu öngördürücü bir biyobelirteç olabileceği vurgulanmıştır (103). Ayrıca FCER1G geninin grup 3 doğal lenfoid hücrelerde hücre zarı ortaklarını stabilize ederek enfeksiyonlara karşı konak bağışıklığını desteklediğini gösteren çalışmalar vardır (104). Bizim çalışmamızda FCER1G genindeki rs11590967 varyantının omalizumaba yanıtsızlık ile ilişkili olduğu tespit edildi. IgE reseptöründeki mutasyonların IgE ye bağlanarak etki eden omalizumab tedavi cevabını etkileyeceğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Astım dünya üzerinde yaklaşık 300 milyon insanı etkileyen küresel bir sağlık sorunudur. Patogenezinde birden fazla genin etkin olduğu hastalık, poligenik kalıtım biçimleri ya da lokus heterojenitesi gibi mekanizmalar ile ortaya çıkmaktadır. Allerjik astımda alevlenmesinde rol oynayan başlıca molekül IgE'dir. En önemli risk faktörü olarak bilinen atopi, çevresel alerjenlere yanıt olarak immün sistemin spesifik IgE üretme eğilimi olarak bilinmektedir. Yani astım epigenetik bir hastalıktır.

Şiddetli astımda tedavi şemasına giren ilk biyolojik molekül omalizumabdır. Omalizumab, spesifik olarak insan immünoglobulin E'yi (IgE) hedef alan rekombinant bir humanize IgG1 monoklonal antikorudur. Anti-IgE (omalizumab) tedavisi şiddetli astım hastaları için yüz güldürücü bir tedavi seçeneği olmasına rağmen, yıllar içerisinde uygulandığı tüm hastalarda beklenen etkiyi gösteremediği ortaya çıkmıştır.

Bu bilgilerden hareketle yapılan bu tez çalışmasında şiddetli astım tanısı ile tedavi alan hastalardan oluşan bir Türk popülasyonunda, ilk defa, Omalizumab tedavisine direnç ile ilişkili olabilecek genetik faktörler WES analizi ile ortaya konmuştur.

Genotipik değerlendirme sonucunda IGHE (rs61984224, rs61984222), IGHG2 (rs11626188), C3 (rs11085194), DOCK8 (rs10217719), SLC9A3 (rs2303736) varyantlarında omalizumab dirençli hasta grubunda homozigot genotip taşıma frekansının kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek olduğu gösterilmiştir. IL4R (rs1801275), FCER2 (rs2287867, rs2287868, rs55828544), IL1RL1(rs1041973) varyantlarında ise heterozigot genotip taşıma frekansının tedaviye dirençli hasta grubunda kontrol grubuna göre anlamlı ölçüde yüksek olduğu gösterilmiştir.

Omalizumab tedavisi planlanan hastalarda tedavi öncesi bakılmak üzere 28 gen içeren bir gen paneli oluşturulmuş ve bu panelin rutinde kullanımı önerilmiştir.

Önerilen gen panelinde yer alan varyantların genotipik ve allelik etkileşimleri ortaya konarak popülasyon genetiği yönünden ülkemiz adına önemli bir veri seti oluşturulmuştur.

Yine Omalizumab dirençli hastalarda, literatürde ve uluslararası veri tabanlarında daha önce tanımlanmamış üçü homozigot ikisi heterozigot olmak üzere beş adet yeni (novel) varyant tespit edilmiştir. Bu varyantların veritabanlarına kaydı için gerekli

başvurular yapılmış olup çalışmamızın en önemli çıktılarından olarak literatüre yeni ve önemli bir katkı sunulmuştur.

KAYNAKLAR

1. Habib N, Pasha MA, Tang DD. Current Understanding of Asthma Pathogenesis and Biomarkers. *Cells* 2022;11(17). doi:10.3390/CELLS11172764,.
2. Galli SJ, Tsai M. IgE and mast cells in allergic disease. *Nat Med* 2012;18(5):693–704.
3. Holdom MD, Davies AM, Nettleship JE, Bagby SC, Dhaliwal B, Girardi E, et al. Conformational changes in IgE contribute to its uniquely slow dissociation rate from receptor FcεRI. *Nat Struct Mol Biol* 2011;18(5):571.
4. Davies AM, Allan EG, Keeble AH, Delgado J, Cossins BP, Mitropoulou AN, et al. Allosteric mechanism of action of the therapeutic anti-IgE antibody omalizumab. *J Biol Chem* 2017;292(24):9975.
5. Pennington LF, Tarchevskaya S, Brigger D, Sathiyamoorthy K, Graham MT, Nadeau KC, et al. Structural basis of omalizumab therapy and omalizumab-mediated IgE exchange. *Nature Communications 2016 7:1* 2016;7(1):1–12.
6. Magen E, Chikovani T, Waitman DA, Kahan NR. Factors related to omalizumab resistance in chronic spontaneous urticaria. *Allergy Asthma Proc* 2019;40(4):273–278.
7. Marzano A V., Genovese G, Casazza G, Fierro MT, Dapavo P, Crimi N, et al. Predictors of response to omalizumab and relapse in chronic spontaneous urticaria: a study of 470 patients. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* 2019;33(5):918–924.
8. Moffatt MF, Kabesch M, Liang L, Dixon AL, Strachan D, Heath S, et al. Genetic variants regulating ORMDL3 expression contribute to the risk of childhood asthma. *Nature* 2007;448(7152):470–473.
9. Moffatt MF, Gut IG, Demenais F, Strachan DP, Bouzigon E, Heath S, et al. A Large-Scale, Consortium-Based Genomewide Association Study of Asthma. *New England Journal of Medicine* 2010;363(13):1211–1221.
10. 2024 GINA Main Report - Global Initiative for Asthma - GINA. [https://ginasthma.org/2024-report/]. 1.5.2025 tarihinde erişilmiştir.
11. Mortimer K, Lesosky M, García-Marcos L, Asher MI, Pearce N, Ellwood E, et al. The burden of asthma, hay fever and eczema in adults in 17 countries: GAN Phase I study. *European Respiratory Journal* 2022;60(3). doi:10.1183/13993003.02865-2021,.
12. Vohra TT, Nowak RM. Asthma. *Rosen's Emergency Medicine: Concepts and Clinical Practice: 2-Volume Set* 2024:794-805.e2.
13. Jaakkola JJK, Ahmed P, Ieromnimon A, Goepfert P, Laiou E, Quansah R, et al. Preterm delivery and asthma: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2006;118(4):823–830.
14. Castro-Rodriguez JA, Forno E, Rodriguez-Martinez CE, Celedón JC. Risk and protective factors for childhood asthma: what is the evidence? *J Allergy Clin Immunol Pract* 2016;4(6):1111.
15. Gui H, Levin AM, Hu D, Sleiman P, Xiao S, Mak ACY, et al. Mapping the 17q12–21.1 locus for variants associated with early-onset Asthma in African Americans. *Am J Respir Crit Care Med* 2021;203(4):424–436.
16. Parnes JR, Molfino NA, Colice G, Martin U, Corren J, Menzies-Gow A. Targeting TSLP in Asthma. *J Asthma Allergy* 2022;15:749–765.
17. Torgerson DG, Ampleford EJ, Chiu GY, Gauderman WJ, Gignoux CR, Graves PE, et al. Meta-analysis of genome-wide association studies of asthma in ethnically diverse North American populations. *Nat Genet* 2011;43(9):887–892.
18. Kay AB. The role of eosinophils in the pathogenesis of asthma. *Trends Mol Med* 2005;11(4):148–152.
19. Dunican EM, Elicker BM, Gierada DS, Nagle SK, Schiebler ML, Newell JD, et al. Mucus plugs in patients with asthma linked to eosinophilia and airflow obstruction. *Journal of Clinical Investigation* 2018;128(3):997–1009.
20. Papi A, Brightling C, Pedersen SE, Reddel HK. Asthma. *The Lancet* 2018;391(10122):783–800.
21. Lambrecht BN, Hammad H, Fahy J V. The Cytokines of Asthma. *Immunity* 2019;50(4):975–991.
22. Li Y, Wang W, Lv Z, Li Y, Chen Y, Huang K, et al. Elevated Expression of IL-33 and TSLP in the Airways of Human Asthmatics In Vivo: A Potential Biomarker of Severe Refractory Disease. *The Journal of Immunology* 2018;200(7):2253–2262.
23. Cheng D, Xue Z, Yi L, Shi H, Zhang K, Huo X, et al. Epithelial interleukin-25 is a key mediator in Th2-high, corticosteroid-responsive asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2014;190(6):639–648.

24. Mitchell PD, Salter BM, Oliveria JP, El-Gammal A, Tworek D, Smith SG, et al. IL-33 and Its Receptor ST2 after Inhaled Allergen Challenge in Allergic Asthmatics. *Int Arch Allergy Immunol* 2018;176(2):133–142.
25. Bosteels C, Neyt K, Vanheerswynghels M, van Helden MJ, Sichien D, Debeuf N, et al. Inflammatory Type 2 cDCs Acquire Features of cDC1s and Macrophages to Orchestrate Immunity to Respiratory Virus Infection. *Immunity* 2020;52(6):1039-1056.e9.
26. Dutertre CA, Becht E, Irac SE, Khalilnezhad A, Narang V, Khalilnezhad S, et al. Single-Cell Analysis of Human Mononuclear Phagocytes Reveals Subset-Defining Markers and Identifies Circulating Inflammatory Dendritic Cells. *Immunity* 2019;51(3):573-589.e8.
27. Godar M, Deswarte K, Vergote K, Saunders M, de Haard H, Hammad H, et al. A bispecific antibody strategy to target multiple type 2 cytokines in asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2018;142(4):1185-1193.e4.
28. Du X, Li C, Wang W, Huang Q, Wang J, Tong Z, et al. IL-33 induced airways inflammation is partially dependent on IL-9. *Cell Immunol* 2020;352:104098.
29. Drake MG, Lebold KM, Roth-Carter QR, Pincus AB, Blum ED, Proskocil BJ, et al. Eosinophil and airway nerve interactions in asthma. *J Leukoc Biol* 2018;104(1):61–67.
30. Kanda A, Yasutaka Y, van Bui D, Suzuki K, Sawada S, Kobayashi Y, et al. Multiple Biological Aspects of Eosinophils in Host Defense, Eosinophil-Associated Diseases, Immunoregulation, and Homeostasis: Is Their Role Beneficial, Detrimental, Regulator, or Bystander? *Biol Pharm Bull* 2020;43(1):20–30.
31. Liu MC, Hubbard WC, Proud D, Stealey BA, Galli SJ, Kagey-Sobotka A, et al. Immediate and late inflammatory responses to ragweed antigen challenge of the peripheral airways in allergic asthmatics: Cellular, mediator, and permeability changes. *American Review of Respiratory Disease* 1991;144(1):51–58.
32. Zhu Z, Homer RJ, Wang Z, Chen Q, Geba GP, Wang J, et al. Pulmonary expression of interleukin-13 causes inflammation, mucus hypersecretion, subepithelial fibrosis, physiologic abnormalities, and eotaxin production. *Journal of Clinical Investigation* 1999;103(6):779–788.
33. Pakkasela J, Ilmarinen P, Honkamäki J, Tuomisto LE, Andersén H, Piirilä P, et al. Age-specific incidence of allergic and non-allergic asthma. *BMC Pulm Med* 2020;20(1). doi:10.1186/S12890-019-1040-2,.
34. Bachert C, Marple B, Schlosser RJ, Hopkins C, Schleimer RP, Lambrecht BN, et al. Adult chronic rhinosinusitis. *Nat Rev Dis Primers* 2020;6(1). doi:10.1038/S41572-020-00218-1,.
35. Waalkens H, Merkus P, Essen-Zandvliet E van, Brand P, Gerritsen J, Duiverman E, et al. Assessment of bronchodilator response in children with asthma. Dutch CNSLD Study Group. *European Respiratory Journal* 1993;6(5):645–651.
36. Sayeedi I, Widrich J. Methacholine Challenge Test. *StatPearls* 2023. [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547716/]. 7.7.2025 tarihinde erişilmiştir.
37. Wenzel SE. Asthma phenotypes: The evolution from clinical to molecular approaches. *Nat Med* 2012;18(5):716–725.
38. Plavsic A, Nikolic BB, Milenkovic B, Miskovic R, Kusic N, Dimitrijevic M, et al. Asthma Inflammatory Phenotypes: How Can We Distinguish Them? *J Clin Med* 2024;13(2). doi:10.3390/JCM13020526.
39. 2025 GINA Strategy Report - Global Initiative for Asthma - GINA. [https://ginasthma.org/2025-gina-strategy-report/]. 7.7.2025 tarihinde erişilmiştir.
40. Papapostolou G, Nasr A, Jarenbäck L, Ankerst J, Bjermer L, Tufvesson E, et al. Peripheral Airway Obstruction in Association with Symptoms and Quality of Life in Asthma. *J Asthma Allergy* 2025;18:491.
41. Nurhan SARIOĞLU Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi D, Hastalıkları Anabilim Dalı G, SARIOĞLU Balıkesir Üniversitesi Tıp Fakültesi N. Derleme|Review Yazışma Adresi / Address for Correspondence Biyolojik Ajanlar ve İmmün Modülatörler Biological Agents and Immune Modulators. *Güncel Göğüs Hastalıkları Serisi* 2020;8(2):62–70.
42. Immunoglobulin E, a new class of human immunoglobulin. *Bull World Health Organ* 1968;38(1):151.
43. Gould HJ, Sutton BJ. IgE in allergy and asthma today. *Nature Reviews Immunology 2008 8:3* 2008;8(3):205–217.
44. Sicherer SH. Advances in anaphylaxis and hypersensitivity reactions to foods, drugs, and insect venom. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2003;111(SUPPL. 3). doi:10.1067/mai.2003.152.

45. Wan T, Beavil R, Fabiane S, Beavil A, … MS-N, 2002 undefined. The crystal structure of IgE Fc reveals an asymmetrically bent conformation. *nature.comT Wan, RL Beavil, SM Fabiane, AJ Beavil, MK Sohi, M Keown, RJ Young, AJ HenryNature immunology, 2002•nature.com*. [https://www.nature.com/articles/ni811]. 3.9.2025 tarihinde erişilmiştir.
46. Gould HJ, Sutton BJ, Beavil AJ, Beavil RL, Mccloskey N, Coker HA, et al. THE BIOLOGY OF IGE AND THE BASIS OF ALLERGIC DISEASE. *Annu. Rev. Immunol* 2025;21:579–628.
47. Arber DA. Molecular Diagnostic Approach to Non-Hodgkin's Lymphoma. *J Mol Diagn* 2000;2(4):178.
48. Schatz DG, Ji Y. Recombination centres and the orchestration of V(D)J recombination. *Nat Rev Immunol* 2011;11(4):251–263.
49. Bacharier LB, Jabara H, Geha RS. Molecular mechanisms of immunoglobulin E regulation. *Int Arch Allergy Immunol* 1998;115(4):257–269.
50. Kracker S, Durandy A. Insights into the B cell specific process of immunoglobulin class switch recombination. *Immunol Lett* 2011;138(2):97–103.
51. Geha RS, Jabara HH, Brodeur SR. The regulation of immunoglobulin E class-switch recombination. *Nature Reviews Immunology 2003 3:9* 2003;3(9):721–732.
52. Ender M. Coşkunpınar. *TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK - Uygulamalı Anlatım*. (Coskunpinar. Ender M., ed.). ıstanbul; 2022.
53. Barnes PJ, Adcock IM. Transcription factors and asthma. *European Respiratory Journal* 1998;12(1):221–234.
54. Monticelli S, Vercelli D, Vercelli D. Molecular regulation of class switch recombination to IgE through ε germline transcription. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2001;56(4):270–278.
55. Gould HJ, Sutton BJ. IgE in allergy and asthma today. *Nat Rev Immunol* 2008;8(3):205–217.
56. Kinet JP. The high-affinity IgE receptor (FcεRI): From physiology to pathology. *Annu Rev Immunol* 1999;17:931–972.
57. Garman SC, Sechi S, Kinet JP, Jardetzky TS. The analysis of the human high affinity IgE receptor FcεRIα from multiple crystal forms. *J Mol Biol* 2001;311(5):1049–1062.
58. Sanak M, Potaczek DP, Nizankowska-Mogilnicka E, Szczeklik A. Genetic Variability of the High-affinity IgE Receptor α Subunit (Fc ε RI α) is Related to Total Serum IgE levels in Allergic Subjects. *Allergology International* 2007;56(4):397–401.
59. Nishiyama C, Hasegawa M, Nishiyama M, Takahashi K, Akizawa Y, Yokota T, et al. Regulation of Human FcεRI α-Chain Gene Expression by Multiple Transcription Factors. *The Journal of Immunology* 2002;168(9):4546–4552.
60. Nishiyama C. Molecular mechanism of allergy-related gene regulation and hematopoietic cell development by transcription factors. *Biosci Biotechnol Biochem* 2006;70(1):1–9.
61. Hasegawa M, Nishiyama C, Nishiyama M, Akizawa Y, Takahashi K, Ito T, et al. Regulation of the Human FcεRI α-Chain Distal Promoter. *The Journal of Immunology* 2003;170(7):3732–3738.
62. Wilson BS, Kapp N, Lee RJ, Pfeiffer JR, Martinez AM, Platt Y, et al. Distinct functions of the FcεR1 γ and β subunits in the control of FcεR1-mediated tyrosine kinase activation and signaling responses in RBL- 2H3 mast cells. *Journal of Biological Chemistry* 1995;270(8):4013–4022.
63. Klnat JP, Pribluda V, Quarto S; JP, Hatigar H, Bakimi J, Kochan LJ, et al. 10U) Armn. Eav. Imunol. i:419. 2. Ilnat. *10M) Fad. Proc, Fad. As. Soc. Cxp. Dlol* 1988;16:3584.
64. Ewart MA, Ozanne BW, Cushley W. The CD23a and CD23b proximal promoters display different sensitivities to exogenous stimuli in B lymphocytes. *Genes Immun* 2002;3(3):158–164.
65. Mümmler C, Milger K. Biologics for severe asthma and beyond. *Pharmacol Ther* 2023;252:108551.
66. Kumar C, Zito PM. Omalizumab. *StatPearls* 2023. [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545183/]. 2.9.2025 tarihinde erişilmiştir.
67. Gyawali B, Georas SN, Khurana S. Biologics in severe asthma: a state-of-the-art review. *Eur Respir Rev* 2025;34(175). doi:10.1183/16000617.0088-2024.
68. Hanania NA, Niven R, Chanez P, Antoine D, Pfister P, Garcia Conde L, et al. Long-term effectiveness and safety of omalizumab in pediatric and adult patients with moderate-to-severe inadequately controlled allergic asthma. *World Allergy Organization Journal* 2022;15(10). doi:10.1016/j.waojou.2022.100695.
69. Solidoro P, Patrucco F, de Blasio F, Brussino L, Bellocchia M, Dassetto D, et al. Predictors of reversible airway obstruction with omalizumab in severe asthma: a real-life study. *Ther Adv Respir Dis* 2019;13. doi:10.1177/1753466619841274,.

70. Kaplan AP, Giménez-Arnau AM, Saini SS. Mechanisms of action that contribute to efficacy of omalizumab in chronic spontaneous urticaria. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2017;72(4):519–533.
71. Thomson NC, Chaudhuri R. Omalizumab: Clinical use for the management of asthma. *Clin Med Insights Circ Respir Pulm Med* 2011;6(1):27–40.
72. Ledford DK. Omalizumab: Overview of pharmacology and efficacy in asthma. *Expert Opin Biol Ther* 2009;9(7):933–943.
73. Khan DA, Banerji A, Blumenthal KG, Phillips EJ, Solensky R, White AA, et al. Drug allergy: A 2022 practice parameter update. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2022;150(6):1333–1393.
74. Humbert M, Taillé C, Mala L, Le Gros V, Just J, Molimard M, et al. Omalizumab effectiveness in patients with severe allergic asthma according to blood eosinophil count: The STELLAIR study. *European Respiratory Journal* 2018;51(5). doi:10.1183/13993003.02523-2017,.
75. Al Meslamani AZ. Decoding treatment efficacy: uncovering response and failure dynamics to biologics in asthma. *Expert Opin Biol Ther* 2024;24(1–2):25–29.
76. Cakmak ME, Öztop N, Yeğit OO, Özdedeoğlu Ö. Evaluation of the clinical features and laboratory data of patients with severe asthma classified as super-responder or non super-responder to omalizumab treatment: a single-center real-life study. *Journal of Asthma* 2023;60(10):1862–1868.
77. Busse WW. Are peripheral blood eosinophil counts a guideline for omalizumab treatment? STELLAIR says no! *Eur Respir J* 2018;51(5). doi:10.1183/13993003.00730-2018.
78. Branicka O, Gawlik R, Glück J. Eosinophil to lymphocyte ratio may predict OCS reduction and change in quality of life (AQLQ) resulting from asthma biological treatment. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 2024;46(2):212–217.
79. Qian R, Yang L, Shen X, Chen C, Huang J, Zhang X, et al. Clinical Response Predictive Model for Omalizumab in Moderate-to-Severe Asthma Patients. *Int J Clin Pract* 2024;2024(1):4651216.
80. Zhang M, Jin M, Zhou X, Lin J, Liu X, Liu C, et al. Effectiveness of omalizumab in patients with severe allergic asthma: A retrospective study in China. *Respir Med* 2021;186:106522.
81. Davies AM, Allan EG, Keeble AH, Delgado J, Cossins BP, Mitropoulou AN, et al. Allosteric mechanism of action of the therapeutic anti-IgE antibody omalizumab. *Journal of Biological Chemistry* 2017;292(24):9975–9987.
82. Thomson NC, Chaudhuri R. Omalizumab: Clinical Use for the Management of Asthma. *Clin Med Insights Circ Respir Pulm Med* 2012;6(1):27–40.
83. Rojo-Tolosa S, Sánchez-Martínez JA, Pineda-Lancheros LE, Gálvez-Navas JM, González-Gutiérrez MV, Jiménez-Gálvez G, et al. Influence of Genetics on the Response to Omalizumab in Patients with Severe Uncontrolled Asthma with an Allergic Phenotype. *Int J Mol Sci* 2023;24(8):7029.
84. Schroeder HW, Cavacini L. Structure and function of immunoglobulins. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2010;125(2 SUPPL. 2). doi:10.1016/j.jaci.2009.09.046.
85. Pirron U, Schlunck T, Prinz JC, Rieber EP. IgE-dependent antigen focusing by human B lymphocytes is mediated by the low-affinity receptor for IgE. *Eur J Immunol* 1990;20(7):1547–1551.
86. McHeyzer-Williams M, Okitsu S, Wang N, McHeyzer-Williams L. Molecular programming of B cell memory. *Nat Rev Immunol* 2011;12(1):24–34.
87. Tashita H, Fukao T, Kaneko H, Teramoto T, Inoue R, Kasahara K, et al. Molecular Basis of IgG2 Deficiency Molecular Basis of Selective IgG2 Deficiency The Mutated Membrane-bound Form of 2 Heavy Chain Caused Complete IgG2 Deficiency in Two Japanese Siblings. *J. Clin. Invest* 1998;101(3):677–681.
88. Yuan K, Ye J, Liu Z, Ren Y, He W, Xu J, et al. Complement C3 overexpression activates JAK2/STAT3 pathway and correlates with gastric cancer progression. *J Exp Clin Cancer Res* 2020;39(1). doi:10.1186/S13046-019-1514-3.
89. Harada Y, Tanaka Y, Terasawa M, Pieczyk M, Habiro K, Katakai T, et al. DOCK8 is a Cdc42 activator critical for interstitial dendritic cell migration during immune responses. *Blood* 2012;119(19):4451–4461.
90. Biggs CM, Keles S, Chatila TA. DOCK8 deficiency: Insights into pathophysiology, clinical features and management. *Clinical Immunology* 2017;181:75–82.
91. Hafsi W, Yarrarapu SNS. Job Syndrome. *StatPearls* 2023. [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK525947/]. 2.11.2025 tarihinde erişilmiştir.
92. Dong Y, Li H, Ilie A, Gao Y, Boucher A, Zhang XC, et al. Structural basis of autoinhibition of the human NHE3-CHP1 complex. *Sci Adv* 2022;8(21). doi:10.1126/SCIADV.ABN3925.

93. Zeng C, Vanoni S, Wu D, Caldwell JM, Wheeler JC, Arora K, et al. Solute carrier family 9, subfamily A, member 3 (SLC9A3)/sodium-hydrogen exchanger member 3 (NHE3) dysregulation and dilated intercellular spaces in patients with eosinophilic esophagitis. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2018;142(6):1843–1855.
94. Gautam Y, Johansson E, Mersha TB. Multi-Omics Profiling Approach to Asthma: An Evolving Paradigm. *Journal of Personalized Medicine 2022, Vol. 12, Page 66* 2022;12(1):66.
95. Pirron U, Schlunck T, Prinz JC, Rieber EP. IgE-dependent antigen focusing by human B lymphocytes is mediated by the low-affinity receptor for IgE. *Eur J Immunol* 1990;20(7):1547–1551.
96. Handoyo S, Meng J, Rosenwasser L. Association of CD23 Polymorphisms with Allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2009;123(2):S82.
97. Tantisira KG, Silverman ES, Mariani TJ, Xu J, Richter BG, Klanderman BJ, et al. FCER2: A pharmacogenetic basis for severe exacerbations in children with asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2007;120(6):1285–1291.
98. Andrews AL, Nasir T, Bucchieri F, Holloway JW, Holgate ST, Davies DE. IL-13 receptor α 2: A regulator of IL-13 and IL-4 signal transduction in primary human fibroblasts. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2006;118(4):858–865.
99. Nguyen THN, Le DHH, Huynh TTM, Le TT, Nguyen TH, Cao Dinh H, et al. Genetic Variant rs1801275 in Atopic Dermatitis: Prevalence and Clinical Implications in Vietnamese Population. *J Asthma Allergy* 2025;18:1065–1078.
100. Al-Muhsen S, Vazquez-Tello A, Alzaabi A, Al-Hajjaj MS, Al-Jahdali HH, Halwani R. IL-4 receptor alpha single-nucleotide polymorphisms rs1805010 and rs1801275 are associated with increased risk of asthma in a Saudi Arabian population. *Ann Thorac Med* 9. doi:10.4103/1817-1737.128849.
101. Ziyab AH, Hankinson J, Ewart S, Schauberger E, Kopec-Harding K, Zhang H, et al. Epistasis between FLG and IL4R Genes on the Risk of Allergic Sensitization: Results from Two Population-Based Birth Cohort Studies. *Sci Rep* 2018;8(1). doi:10.1038/S41598-018-21459-X.
102. Queiroz GA, Costa RS, Carneiro VL, Jesus TS, Alcântara-Neves NM, Pires AO, et al. IL1RL1 Variants rs1041973 and rs873022 are Associated With Allergy Markers and Soluble ST2 Production in a Brazilian Population. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 2017;139(2):AB4.
103. Zhang X, Cai J, Song F, Yang Z. Prognostic and immunological role of FCER1G in pan-cancer. *Pathol Res Pract* 2022;240:154174.
104. Huang C, Zhu W, Li Q, Lei Y, Chen X, Liu S, et al. Antibody Fc-receptor FcεR1γ stabilizes cell surface receptors in group 3 innate lymphoid cells and promotes anti-infection immunity. *Nature Communications 2024 15:1* 2024;15(1):1–15.