

ASTMADA İNHALE STEROİD TEDAVİYE YANITIN İNDÜKTE BALGAM ECP DÜZEYİ İLE İZLENMESİ

Münevver ERDİNÇ*, Sibel ÖKTEM*, Bilgül KIRAN*, Ali VERAL**, Ali KOKULUDAĞ***

* Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, İZMİR

** Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, İZMİR

*** Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Allerji ve İmmunoloji Bilim Dalı, İZMİR

ÖZET

Bu çalışmada; inhale steroidin (800mcg/gün budesonid turbuhaler) bronş astması olgularında akciğer fonksiyonları, serum ECP, indükte balgam eozinofil ve eozinofilik katyonik protein (ECP) düzeyleri gibi, bazı enflamasyon göstergelerine etkisi araştırılmıştır. En az 3 aydır gereğinde kısa etkili betamimetik dışında tedavi almayan, stabil, hafif astmalı 15 (11K,4 E) olgudan indükte balgam elde edilmiş, elde edilen balgama gerekli işlemler uygulandıktan sonra süpernatantında ECP bakılmış, altta kalan kısım hücre ayırımı için kullanılmıştır. Olguların tümüne 3 ay süre ile 800 mcg/gün inhale steroid (BUD) verilmiş, 3 aylık tedavi sonrası serum ECP, indükte balgam ve SFT tekrarlanmıştır. Hastalar bu süre içinde tedavi değiştirmeyi gerektirecek bir atak geçirmemiştir. Tedavi öncesi serum ECP düzeyi 25 ng/mL, tedavi sonrası 14.9 ng/mL olarak saptanmış (p<0.05), tedavi öncesi indükte balgamda ECP düzeyi 121.73±66.32 ng/mL (25-200) iken, tedavi sonrası 35.40±47.24 ng/mL (5-196) olarak bulunmuştur (p<0.05). Eozinofiller ise tedavi öncesi %8.40±8.07, tedavi sonrası % 6.92±4.70 olarak saptanmış, azalma olmasına rağmen değişkenlik anlamlı bulunmamıştır (p>0.05). Tedavi öncesi 2536±196 mL olan FEV₁, tedavi sonrası 2817±149 mL ye çıkmış, artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Aynı şekilde FEV₁/FVC değerlerindeki artış da anlamlıdır (p<0.05). Balgam ECP düzeyi ile eozinofil yüzdesi arasında paralellik saptanmamıştır (p>0.05). Budesonidin indükte balgam ECP değerlerini belirgin olarak azalttığı, FEV₁'de anlamlı düzelleme sağladığı görülmüştür. Sonuç olarak; astmalı hastalarda tedavi etkinliğinin izleminde ve astmanın kontrol altında olup olmadığının belirlenmesinde indükte balgamda ECP oldukça duyarlı bir parametredir.

Anahtar Kelimeler: Astma, indükte balgam, eozinofilik katyonik protein(ECP), inhale steroid.

(Solunum 2002;4:11-14)

SUMMARY

ASSESSMENT OF EFFECT OF INHALED STEROID THERAPY ON ASTHMA BY EOSINOPHILIC CATIONIC PROTEIN LEVELS IN INDUCED SPUTUM

In this study, we examined the effect of inhaled budesonide (800mcg daily via turbuhaler) on lung function and various markers of airway inflammation including peripheral blood eosinophilic cationic protein (ECP), eosinophils and ECP levels in induced sputum from 15 patients (11 female, 4 male) with mild stable asthma needing short acting betamimetic therapy only at least for three months. Induced sputum was obtained from all patients and all of it was used for investigation. The collected sputum was processed immediately and supernatant of this was protected for ECP level and the portion under the supernatant was used for cell differentiation. After three months of treatment with inhaled steroid all parameters were repeated. Peripheral blood ECP level was found 25 ng/mL and it was found 14.9 ng/mL after treatment (p<0.05). At baseline, mean ECP level in induced sputum was found 121.73±66.31 ng/mL and 35.40±47.24 ng/mL after therapy with inhaled steroid (p<0.05). The percentage of eosinophils in induced sputum decreased slightly from baseline to the end of treatment (8.40% to 6.92%) but this decrease was not statistically significant (p>0.05). Significant correlation was observed between FEV₁ measurements before and after treatment (p<0.05). No correlation was found between ECP levels and percentage of eosinophils in induced sputum (p>0.05). We concluded that treatment with inhaled budesonide was associated with significant improvements in forced expiratory volume in one second and ECP levels. The ECP concentration in induced sputum could serve as useful and highly sensitive marker for evaluating the severity of asthma and monitoring airway inflammation to achieve the optimal control of asthma.

Key words: Asthma, induced sputum, eosinophilic cationic protein (ECP), inhaled steroid.

(Solunum 2002;4:11-14)

Yazışma adresi: Doç.Dr.Münevver Erdinç, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Bornova, İZMİR.

Tel: (232) 388 14 23 - Fax: (232) 388 71 92 - e-mail: merdinc@med.ege.edu.tr

GİRİŞ

Astma patogenezinde temel olay, havayolu enflamasyonudur. Havayolu enflamasyonunun değerlendirilmesi astma tanı ve tedavisinde çok önemlidir. Havayollarındaki enflamasyon monitorize edilebilirse, hastalığın şiddeti, atakların etyolojisi ve tedaviye olan yanıt izlenerek astma kontrolünün daha iyi olması sağlanabilmektedir(1).

Havayolu enflamasyonunu belirlemede direkt yöntemler kadar değerli, ancak invaziv olmayan hızlı bir tanı yöntemi olarak son 10 yıldır indükte balgam analizleri kullanılmaktadır. Bu yöntemle havayolu enflamasyonunda etkili olan solubl maddeler ve hücreler elde edilebilmektedir(1,2,4,5).

Kronik astma tedavisinde ilk ve çoğu kez başlıca seçenек inhale steroidlerdir. Erken dönemde başlanan inhale steroid tedavi ile astma kolaylıkla kontrol altına alınabilmekte, alevlenmeler ve kalıcı irreverzibl havayolu hasarına gidis önlenabilmektedir.

Allerjen ile karşılaşma veya ataklar sırasında indükte balgamda eozinofiller, eozinofilik katyonik protein (ECP) ve TNF- α gibi sitokinlerin arttığı, inhale steroid tedavi ile de azaldığı bilinmektedir(2). Balgam eozinofil ve ECP değerlerinin steroid tedavi ile azaldığı kronik bronşit olgularında da gösterilmiştir(3). Hafif stabil astmalı olgularda solunum fonksiyon testleri, kanda ve indükte balgamda eozinofil ve ECP düzeylerini ölçerek enflamasyonu göstermek ve inhale steroid tedavi sonrası bu göstergelerdeki değişiklikleri belirleyerek, indükte balgamın astma izleminde kullanılıp kullanılmayacağını araştırmak amacıyla bu çalışma düzenlenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

ATS astma kriterlerine uygun (semptomlar, reverzibl havayolu obstrüksiyonu veya metakolin provokasyon testi ile bronş hiperreaktivitesinin saptanması, atopi varlığı), sigara içmeyen, stabil hafif persistan astmalı, en az 3 aydır herhangi bir antiinflamatuvar tedavi almayan (inhale steroid tedaviyi ya kendiliğinden kesmişlerdi, ya da çalışma amacıyla kesilmiştir), gereğinde kısa etkili betamimetik dışında astma tedavisi almayan 15 (4 erkek, 11 kadın) çalışmaya dahil edilmiştir. Son 1 ay içinde astma atağı veya üst solunum yolu enfeksiyonu geçiren olgular çalışma dışı bırakılmıştır.

Bir aylık tarama periyodu sonrası olguların fizik bakısı, solunum fonksiyon testleri ve hemogramları yapılmıştır. Balgam indüksiyonu için; %3'lük salin solüsyonu olgulara jet nebulizatörle (PortaNeb MEDİC-AİD 6-8 Lt/dak.) 5-7 dak inhale ettirilmiş ve ağzın bol suyla çalkalanmasının

ardından hastanın derin öksürmesi sağlanmıştır. Yaklaşık 2 ml balgam elde edildiğinde işlem sonlandırılmıştır. Hiçbir olguda FEV₁'de işlem sırasında %20'lik düşüş gözlenmemiştir.

Balgam, 50 ml lik polipropilen tüplerde toplanarak hemen işleme alınmıştır. Önce 2 cc %1 dithiothreitol (DTT) içeren Hank's dengeli tuz solüsyonu (HBSS) eklenerek oda ısısında çalkalanarak homojenize edilmiştir. Daha sonra saf HBSS ile 10 ml ye tamamlanmış, dilüe edilmiştir. Bu karışım, +4C'de 1800 devirle 10 dak santrifüje edilmiş, üstteki sıvı (süpernatant) ECP için -70C'de saklanmış, altta kalan kısım hücre diferansiyasyonu için kullanılmıştır. Balgamın üstte kalan kısmında, radioimmunoassay (RIA) yöntemiyle ticari kit (Pharmacia ve UpJohn Diagnostics) kullanılarak 2-200 ng/ml arası ECP düzeyleri çalışılmıştır. Hücre diferansiyasyonu için preparatlar patoloji laboratuvarında hematoxilen-eozin ile boyanmış, 100 hücre sayılıp oranların alınmasıyla değerlendirilmiştir. Sayısal verilerin ortalamaları ve standart sapmaları hesaplanarak, tedavi öncesi ve sonrası değerlerin değişimi t-test veya eşdeğeri olan Mann-Whitney testi ile yapılmıştır.

BULGULAR

Çalışmaya; stabil, hafif astmalı 15 olgu alınmıştır. Olguların 11'i kadın, 4'ü erkek olup yaş ortalamaları 40.7 \pm 7.6 (26-51) yıl idi.

Olguların hiçbiri son 3 ay içinde inhale veya sistemik steroid almamış, sadece gereğinde kısa etkili betamimetik kullanmışlardı.

Tüm olgulara 3 ay süre ile düzenli 800mcg/gün budesonid (BUD) turbuhaler inhale ettirilmiştir.

3 aylık inhale steroid kullanım süresi boyunca hastaların hiçbiri tedavide değişiklik gerektirecek bir atak geçirmemiş, 2 olgu hafif üst solunum yolu enfeksiyonu nedeniyle kısa süreli antibiyotik kullanmıştır.

Tedavi öncesi FEV₁ 2536 \pm 195mL (% 87,14), tedavi sonrası FEV₁ 2817 \pm 149 mL (%98.51) olarak bulunmuştur. Artış istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.05).

Tedavi öncesi serum ECP 25.0 \pm 16.43 ng/mL iken tedavi sonrası 14.9 \pm 8.1 ng/mL olarak ölçülmüştür (p<0.05).

İndükte balgamda ECP ise; tedavi öncesi 121.7 \pm 66.32ng/mL (25-200), tedavi sonrası 35.47 \pm 47.24ng/mL (5-196) olarak bulunmuştur (p=0.003).

İndükte balgamda eozinofil, tedavi öncesi %8.40 \pm 8.07, tedavi sonrası %6.92 \pm 4.70 olarak saptanmış, azalma olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır(p>0.05).

İndükte balgam ECP düzeyi ile eozinofil yüzdesi arasında anlamlı bir ilişki gözlenmemiştir (p>0.05).

İndükte balgamdaki hücrelerin tedavi öncesi ve tedavi

sonrası değerleri Tablo I' de gösterilmiştir.

Tablo I: İndükte balgam hücre dağılımları.

	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası
Makrofaj (%)	63.73	55.00
Lenfosit (%)	7.20	7.53
Nötrofil (%)	20.00	25.61
Eozinofil (%)	8.40	6.92

Tedavi öncesi ve sonrası tüm parametreler Tablo II'de gösterilmiştir.

Tablo II: 800 mcg/gün budesonid tedavisi öncesi ve sonrası SFT, ECP ve eozinofil değerleri.

	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	P
FEV ₁ (mL)	2536±195	2817±149	0.026
(%)	(%87)	(%98.5)	
Serum ECP (ng/mL)	25.0±16.43	14.9±8.1	0.022
İndükte balgam ECP (ng/mL)	121.7±66.32	35±47.24	0.003
İndükte balgam eozinofil (%)	8.40±8.07	6.92±4.40	>0.05

TARTIŞMA

Astmada havayolu enflamasyonunun şiddetini ve doğasını belirlemede , bronkoskopik biyopsi, lavaj ve BAL invaziv olmakla birlikte halen en geçerli yöntemler olarak kabul edilmektedir. Ya da enflamasyon indirekt olarak; semptomlar, spirometri, PEF, havayolu duyarlılığı ve periferik kan enflamasyon göstergeleri ile ölçülmeye çalışılmaktadır. Noninvaziv oldukları için tercih edilen bu indirekt ölçümler nonspesifik ölçümlerdir ve her zaman enflamasyonun direkt göstergeleri ile paralellik göstermemektedir(1,4,6,7,20).

Son 10 yılda, indükte balgam işlemi, astmada havayolu enflamasyonunu direkt olarak göstermede noninvaziv ve güvenilir bir yöntem olarak ileri sürülmüştür. İndükte balgam ile elde edilen enflamatuvar bulgular, en iyi bronş lavajı ile korelasyon göstermektedir(10). Her ikisi de santral havayolları lümenindeki sekresyonları değerlendirmektedir.

İndükte balgam, astmalı olgularda havayolu enflamasyonunun varlığı yanısıra atakları ve astmanın şiddetini objektif olarak göstermekte, hastalığın ve tedavinin monitorizasyonunda değerli bir yöntem olarak kullanılmaktadır. Enflamasyonun ve alevlenmelerin

eozinofilik ve noneozinofilik olması tedavi yönünden oldukça önemlidir(7).

Astmada inhale steroid tedavinin doz azaltımının neye göre yapılacağı halen net değildir. Klinik semptomlar enflamasyonun gerçek şiddetini yansıtmayabilir. İn hale steroid yanısıra kullanılan uzun etkili betamimetikler, semptomları ve akciğer fonksiyonlarını düzeltmesine rağmen balgam eozinofilisini azaltmamaktadırlar. McIvor ve ark. salmeterolün astmalılarda solunum fonksiyonlarını ve semptomları kontrol ederek inhale steroid dozunun azaltılmasına neden olduğunu oysa balgam eozinofilisinin devam etmesi yani enflamasyonun kontrol altında olmaması nedeniyle atak gelişebileceğini göstermişlerdir(8).

Atopik astmatiklerde allerjen maruziyeti sonrası veya ataklar sırasında balgamda eozinofiller artmakta, steroid tedavi ile azalmaktadır(9,19). Normal sağlıklı kişilerde indükte balgam eozinofil yüzdesinin %0.6 (0.2-2.4) olduğu bilinmektedir(11). Çalışmamızda üç ay 800 mcg/gün inhale steroid tedavi sonrası olgularımızın eozinofil yüzdesi %8.40 dan %6.92'ye inmiş, ılımlı bir azalma olmakla birlikte bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Benzer şekilde, Fahy ve ark. çalışmalarında dört hafta düşük doz inhale steroid öncesi ve sonrası indükte balgam eozinofil yüzdelerindeki azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış, ancak plasebo grubu ile aradaki fark anlamlı bulunmuştur(12).

Astmalılarda serum, bronş dokusu, BAL ve indükte balgamda ECP düzeylerinin normal kişilerden daha yüksek olduğu birçok çalışmada kanıtlanmıştır. Çalışmaların çoğunda da ECP düzeyleri ile eozinofil sayıları arasında korelasyon gösterilmiştir. Bu durum, ECP ölçümlerinin daha basit ve ucuz olan eozinofil sayımına ek katkısının olmayacağını düşündürmekle birlikte bu paralelliğin her zaman söz konusu olmadığı da bilinmektedir. Hastaların çoğunda ECP, eozinofil aktivasyonunun daha iyi yansıtmaktadır(13,14).

Eozinofilik enflamasyon steroidlerle büyük ölçüde baskılanmakta ve ECP düzeyleri astmada steroid tedavinin düzenlenmesinde yararlı olmaktadır. İn hale steroid kullanan astmalılarda steroid dozlarının randomize olarak ECP ya da PEF ölçümleri ile izlenerek ayarlandığı bir çalışmada, ECP ile izlenen olguların steroid dozunda daha fazla azalmalar elde edilebildiği gösterilmiştir. ECP'nin özellikle yüksek doz steroid kullanan olgularda enflamasyonun kötüleşmesi hakkında daha güvenilir bir gösterge olarak en az medikal tedavi ile en iyi kontrolü sağlamada kullanılabileceği belirtilmektedir(3,15).

Fujimoto ve ark. yaptıkları çalışmada indükte balgam eozinofil sayısı ile ECP arasında korelasyon saptamışlar, ECP düzeyini sağlıklı kişilerden 30 kat daha yüksek bulmuşlardır. Astmanın şiddetine göre

yaptıkları değerlendirmede ise, hafif astmalılarda eozinofil yüzdesi %9.2 iken ağır astmalılarda %39.4 olarak saptanmış, astmanın şiddeti arttıkça hem eozinofil hem de ECP düzeyinin arttığı, ikisi arasında korelasyonun varlığı gösterilmiştir(13). Çalışmamızda bu korelasyon gözlenmemiştir. Olguların tümünün hafif astmalı olmaları ve kontrol grubunun olmaması bu sonuca neden olmuş olabilir.

Pedersen ve ark. 1600 mcg/gün ve 400 mcg/gün BUD ile FEV₁'de anlamlı düzelme saptamışlar, serum ECP düzeyleri de tedavi ile anlamlı gerilemiştir. Bu gerileme yüksek doz BUD grubunda 1. aydan itibaren gözlenmesine karşın, düşük doz tedavi alan grupta aylar sürmüştür(16). Bir başka araştırmada inhale steroid sonrası FEV₁'de anlamlı artış, bronş hiperreaktivitesinde, ekshale NO'da, indükte balgam eozinofil sayısında anlamlı azalma gözlenmiş, balgam ECP düzeylerinin astmanın şiddetini en iyi yansıtan parametre olduğu ileri sürülmüştür(17). Son yıllarda astmadan farklı bir klinik görünüm olarak tanımlanan eozinofilik bronşit tanısı da indükte balgam eozinofilisinin varlığı ile konabilmekte, inhale steroid tedavi ile balgam eozinofilisinin ve tek semptom olan kronik öksürüğün ortadan kalktığı ileri sürülmektedir(18). İndükte balgam yönteminin astma izlemindeki yeri artık tartışmasız kabul edilmektedir. Ancak işlemin halen zaman ve maliyet yönünden pahalı olması rutin olarak kullanılmasını engellemektedir. Son zamanlardaki gelişmeler bu dezavantajları azaltma yönündedir. Gereksiz süre ve doz steroid tedavi kullanımı, atağın doğası ve önceden belirlenebilmesi aslında tedavi maliyetini azaltan faktörlerdir. Çalışmamızda tüm parametreler içinde tedaviye yanıtı göstermede en duyarlı parametrenin indükte balgam ECP düzeyi olduğu görülmüştür. Özellikle zor astma olgularının indükte balgamdaki enflamatuvar bulgularının iyi değerlendirilmesinin bu olguların astmalarının kontrolü ve tedavilerinin izlenmesi açısından büyük önem taşıdığı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Pizzichini E, Pizzichini MMM, Hargreave FE. Induced sputum in the management of asthma. *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*. 1998;19:581-592.
2. Jatakanon A, Lim S, Chung KF, Barnes PJ. An inhaled steroid improves markers on airway inflammation in patients with mild asthma. *Eur Respir J* 1998;12:1084-1088.
3. Pizzichini E, Pizzichini MMM, Gibson P, Parameswaran K, Gleich GJ, Berman L, Dolovich J, Hargreave FE. Sputum eosinophilia predicts benefit from prednisone in smokers with chronic obstructive bronchitis. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:1511-1517.
4. Pavord ID, Pizzichini MMM, Pizzichini E, Hargreave FE. The use of induced sputum to investigate airway inflammation. *Thorax* 1997;52:498-501.
5. Pizzichini E, Pizzichini MMM, Efthimiadis A, et al. Indices of airway inflammation in induced sputum: reproducibility and validity of cell and fluid phase measurements. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:308-317.
6. Kips JC, Fahy JV, Hargreave FE, Ind PW, Veen JJCM. Methods for sputum induction and analysis of induced sputum: a method for assessing airway inflammation in asthma. *Eur Respir J* 1998; 11:suppl.26:9s-12s.
7. Jayaram L, Parameswaran K, Sears MR, Hargreave FE. Induced sputum cell counts: their usefulness in clinical practice. *Eur Respir J* 2000;16:150-158.
8. McIvor RA, Pizzichini E, Turner MO, Hussack P, Hargreave FE, Sears MR. Potential Masking: Effects of salmeterol on airway inflammation in asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:924-930.
9. Hargreave FE. Induced sputum and response to glucocorticoids. *J Allergy Clin Immunol* 1998;102:102-105.
10. Keatings VM, Evans DJ, O'Connor BJ, Barnes PJ. Cellular profiles in asthmatic airways: a comparison of induced sputum, bronchial washings, and bronchoalveolar lavage fluid. *Thorax* 1997;52:372-374.
11. Spanevello A, Confalonieri M, Sulotto F, Romano F, Balzano G, Migliori GB, Bianchi A, Michetti G. Induced sputum cellularity. Reference values and distribution in normal volunteers. Brief communication. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:1172-1174.
12. Fahy JV, Boushey HA. Effect of low-dose beclomethasone dipropionate on asthma control and airway inflammation. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;11;1240-1247.
13. Fujimoto K, Kubo K, Matsuzawa Y, Sekiguchi M. Eosinophil cationic protein levels in induced sputum correlate with the severity of bronchial asthma. *Chest* 1997;112:1241-1247.
14. Gibson PG, Woolley KL, Carty K, Murree-Allen K, Salto N. Induced sputum eosinophil cationic protein (ECP) measurement in asthma and chronic obstructive airway disease (COAD). *Clin Exp Allergy* 1998;28:1081-1088.
15. Donner CF. What does ECP measurement tell us in clinical practice. Serum ECP as monitoring tool for corticosteroid treatment. An International Study. *ERS Berlin 1997*.
16. Pedersen B, Dahl R, Karlström R, Peterson CGB, Venge P. Eosinophil and neutrophil activity in asthma in a one-year trial with inhaled budesonide. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:1519-1529.
17. Lim S, Jatakanon A, John M, Gilbey T, O'Connor BJ, Chung KF, Barnes PJ. Effect of inhaled budesonide on lung function and airway inflammation. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;159:22-30.
18. Brightling CE, Ward AJ, Pavord ID. Airway inflammation, airway responsiveness and cough before and after inhaled budesonide in patients with eosinophilic bronchitis. *Eur Respir J* 2000;15:682-686.
19. Keatings VM, Jatakanon A, Worsdell M, Barnes PJ. Effects of inhaled and oral glucocorticoids on inflammatory indices in asthma and COPD. *Am J Respir Crit Care Med* 1997;155: 542-548.
20. Fabbri LM, Durham S, Holgate ST, O'Byrne PM, Postma DS. Assessment of airway inflammation: an overview. *Eur Respir J* 1998;11:(supp)26, 6s-8s.